



**Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de
Cymbopogon citratus (DC. Stapf) provenientes de matrices
tratadas con radiación UV-B**

Cindy Julieth Olarte Cetina

Universidad Nacional Abierta y a Distancia

Escuela de Ciencias Básicas Tecnología e Ingeniería

Pregrado en Química

Bogotá D.C., Colombia

2018

**Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de
Cymbopogon citratus (DC. Stapf) provenientes de matrices
tratadas con radiación UV-B**

Cindy Julieth Olarte Cetina

Tesis presentada como requisito para optar al título de:

Químico

Ingeniero Agrónomo, M.Sc. Ingeniería Agrícola Rafael Andrés Ramírez

Director:

Ingeniero Agrícola, M.Sc. Ingeniería Civil, Doc.rer.hort - Claudia Patricia Pérez

Codirectora

Universidad Nacional Abierta y a Distancia

Escuela de Ciencias Básicas Tecnología e Ingeniería

Pregrado en Química

Bogotá D.C., Colombia

2018

Dedicatoria

Para mis amados padres Marlen Cetina y Nelson Olarte, quienes incondicionalmente creyeron en mí, me brindaron todo su apoyo y paciencia para hacer mi sueño realidad.

Agradecimientos

Inicialmente a Dios, por brindarme la oportunidad de ser profesional, por acompañarme día a día, concediéndome bendiciones y fuerza para superar los obstáculos a lo largo del camino, y lograr culminar esta etapa de mi vida.

A mi familia, por sus palabras de aliento y apoyo emocional.

A mi esposo, por su amor, comprensión, paciencia y apoyo durante mi formación profesional.

Al profesor Rafael Andrés Ramírez Alvarado, director del proyecto de investigación, por sus valiosa colaboración tanto académica, experimental y práctica a lo largo de mi formación profesional.

Al profesor Yamid Ortiz Rojas, por sus conocimientos, orientación y paciencia.

A Universidad Nacional, especialmente a la profesora Claudia Patricia Pérez Rodríguez quien hizo posible la obtención de espacios y equipos necesarios para la realización de las pruebas de laboratorio.

A mi compañero Danilo Manrique, quien con paciencia me aportó valiosos conocimientos y herramientas durante la carrera profesional, así como un apoyo significativo durante el desarrollo del proyecto de investigación.

Resumen

En la actualidad la búsqueda de tecnologías que permitan generar aumentos significativos en la capacidad antioxidante de las especies vegetales, corresponde a una de las necesidades para la obtención de alimentos con valor agregado y con mejor composición química, de esta forma el estudio de plantas como la limonaria (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) genera gran interés debido a la presencia de compuestos fenólicos en esta, especialmente los flavonoides considerados potentes antioxidantes. Han sido reportados efectos anticancerígenos y anti-mutagénicos; Así mismo gracias a su característico aroma de limón, es de considerable importancia en la industria de alimentos siendo también una importante materia prima utilizada en la industria farmacéutica, la industria de perfumería y cosmética, especialmente para la síntesis de la vitamina A.

La investigación permitió evaluar la capacidad antioxidante de extractos de limonaria, con el fin de identificar la respuesta del material biológico al ser tratado con radiación ultravioleta B (UV-B). Se empleó material biológico en dos estados fenológicos, los cuales fueron expuestos a una dosis de radiación UV-B de $0,05 \text{ Whm}^{-2}$, el análisis de la capacidad antioxidante de los extractos se realizó empleando los métodos DPPH y ABTS, Así mismo se utilizó el método de Folin-Ciocalteu, para conocer el contenido de compuestos fenólicos en los extractos, posteriormente se realizó un análisis por cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas GC-MS con el fin de determinar los perfiles cromatográficos de los extractos tratados y controles.

De acuerdo con los resultados obtenidos una dosis de radiación UV-B de $0,05 \text{ Whm}^{-2}$, genero un aumento en la actividad antioxidante de la planta en estado fenológico punto de corte con tiempo de adaptación de 30 minutos, representada en un incremento porcentual del 15,83%

respecto a su extracto control determinado con el método DPPH, y 0,7% determinado con el método ABTS. El análisis de GC-MS, arrojó un aumento en el contenido de 13 de los 21 compuestos identificados en los extractos tratados respecto a los extractos control.

Palabras claves: Aromáticas, cohobación, ABTS, DPPH, espectroscopia

Abstract

Currently, the search for technologies that can generate significant increases in the antioxidant capacity of plant species, corresponds to one of the needs of obtaining food with added value and better chemical composition, in this way the study of plants as lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) generates great interest due to the presence of phenolic compounds in this, especially the flavonoids considered potent antioxidants. Anticancer and anti-mutagenic effects have been reported; Likewise, thanks to its characteristic lemon aroma, it is of considerable importance in the food industry and is also important raw material used in the pharmaceutical industry, the perfumery and cosmetics industry, especially for the synthesis of vitamin A.

The research allowed to evaluate the antioxidant capacity of lemongrass extracts, in order to identify the response of the biological material when treated with ultraviolet B radiation (UV-B). Biological material was used in two phenological stages, which were exposed to a dose of UV-B radiation of 0.05 Whm^{-2} , the analysis of the antioxidant capacity of the extracts was made using the DPPH and ABTS methods. The Folin-Ciocalteu method, in order to know the content of phenolic compounds in the extracts, an analysis was subsequently carried out by gas chromatography coupled to mass spectrometry GC-MS in order to determine the chromatographic profiles of the extracts and controls.

According to the results obtained, a dose of UV-B radiation of 0.05 Wh.m^{-2} , generated an increase in antioxidant activity of the plant in phenological stage cut-off point with adaptation time of 30 minutes, represented by a percentage increase of 15.83% with respect to its control extract determined with the DPHH method, and 0.7% determined with the ABTS method. The

GC-MS analysis showed an increase in the content of 13 of the 21 compounds identified in the extracts treated with respect to the control extracts.

Keywords words: Aromatics, cohobation, ABTS, DPPH, spectroscopy

Tabla de Contenido

Resumen.....	5
Lista de tablas	11
Lista de figuras.....	12
Lista de Ecuaciones.....	13
Lista de abreviaturas	14
Introducción	19
1. Estado del arte.....	21
1.1. Caracterización botánica	21
1.1.1. Clasificación y etimología	21
1.1.2. Descripción botánica.....	21
1.2. Actividad biológica.....	22
1.3. Extracto de limonaria y su composición química	24
1.4. Obtención del extracto	27
1.4.1. Hidrodestilación- Cohobación	27
1.5. Metabolismo secundario	29
1.6. Radiación UV-B y su efecto en las plantas.....	33
1.6.1. Radiación UV-B.....	33
1.6.2. Efectos de la radiación UV-B sobre la morfología y anatomía de las plantas	34
1.6.3. Radiación UV-B sobre procesos fotoquímicos y metabólicos.....	36
1.6.4. Radiación UV-B como elicitor físico.....	40
1.7. Actividad antioxidante de las plantas y métodos para su determinación.....	41
1.7.1. Ensayo DPPH.....	42
1.7.2. Ensayo ABTS.....	44
1.7.3. Contenido total de fenoles (Folin Ciocalteu)	46
1.8. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en el análisis de la composición química de la limonaria.....	47
1.8.1. Cromatografía de gases.....	47
1.8.2. Espectrometría de masas	50
1.8.3. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.	51
2. Objetivos	53
2.1. Objetivo general.....	53

2.2.	Objetivos específicos	53
3.	Metodología	54
3.1.	Material vegetal	54
3.2.	Determinación de las dosis de radiación	54
3.3.	Parámetros analizados	55
3.3.1.	Método de extracción.....	56
3.3.2.	Contenido de Fenoles totales	57
3.3.3.	Actividad antioxidante	58
3.3.3.1.	Método DPPH.....	58
3.3.3.2.	Método ABTS	59
3.3.4.	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).....	60
3.4.	Diseño experimental	61
4.	Resultados y Discusión	62
4.1.	Dosis de radiación aplicada a la limonaria.....	62
4.2.	Efecto de estrés con UV-B en el rendimiento de extracción.	63
4.3.	Efecto del estrés con UV-B en el contenido de fenoles totales.....	67
4.4.	Efecto de estrés con UV-B en la actividad antioxidante.....	74
4.5.	Efecto de estrés con UV-B en el análisis de la composición química de los extractos de limonaria aplicando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).	81
5.	Conclusiones y Recomendaciones	95
5.1.	Conclusiones	95
5.2.	Recomendaciones	96
6.	Literatura de consulta.....	98
A.	Anexo A: análisis estadístico ANOVA	121
B.	Anexo B:Dosis de radiación aplicada a la limonaria	125
C.	Anexo C: Protocolos	129
D.	Anexo D: Curvas de calibración para las variables de estudio.....	132
E.	Anexo E: Cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas	137

Lista de tablas

Tabla 1. Fitoquímicos reportados en la Limonaria (<i>Cymbopogon citratus</i>).....	25
Tabla 2. Efectos de la radiación UV-B en plantas a nivel molecular, bioquímico y fisiológico .	36
Tabla 3. Parámetros analizados para la limonaria.....	55
Tabla 4. Características del diseño factorial 2^2 para la determinación de actividad antioxidante de limonaria (<i>Cymbopogon citratus</i>).	61
Tabla 5. Dosis de radiación UV-B aplicada a la Limonaria.	62
Tabla 6. Rendimiento de extracción para Limonaria en sus dos estados fenológicos.	64
Tabla 7. Contenido de fenoles totales en los extractos de limonaria (<i>Cymbopogon citratus</i>).....	67
Tabla 8. Actividad antioxidante en los extractos de Limonaria (<i>Cymbopogon citratus</i>)	74
Tabla 9. Reporte de caracterización por GC-MS de extracto de limonaria en estado fenológico punto de corte irradiado a $0,05 \text{ Wh.m}^{-2}$ y tiempo de adaptación 30 minutos (AB)	82
Tabla 10. Reporte de caracterización por GC-MS de extracto de limonaria en estado fenológico 17 días después de punto de corte irradiado con $0,05 \text{ Wh.m}^{-2}$ y tiempo de adaptación 15 minutos (BA)	85

Lista de figuras

Figura 1. Estructura química de los principales constituyentes del aceite esencial de Limonaria (<i>Cymbopogon citratus</i>)	26
Figura 2. Montaje método de hidrodestilación con aparato tipo clevenger	29
Figura 3. Reacción entre antioxidante (A) con el radical DPPH	44
Figura 4. Oxidación de ABTS por parte de persulfato de potasio generando el radical ABTS y su reacción con un compuesto antiradical (AOH).....	45
Figura 5. Cámara de radiación y Radiómetro DELTHA OHM HD 2102.2 con sonda LP 471 UV-B.....	54
Figura 6. Curva de aplicación de radiación UVB generada por el programa DeltaLog9.....	62
Figura 7. Rendimiento de extracción de la limonaria respecto al tiempo de adaptación a la dosis de radiación ($0,05\text{Whm}^{-2}$).	65
Figura 8. Contenido de fenoles totales de la limonaria respecto al tiempo de adaptación a la dosis de radiación ($0,05\text{Whm}^{-2}$).	70
Figura 9. Actividad antioxidante de la limonaria para métodos DPPH y ABTS.....	77
Figura 10. Cromatograma obtenido por GC-MS. Extracto de limonaria punto de corte irradiado a $0,05\text{Wh.m}^{-2}$ con 30 minutos de adaptación. Picos: 1, Neral; 2, Geraniol; 3, β -mirceno; 4, Geranial.....	83
Figura 11. Cromatograma obtenido por GC-MS. Extracto control de limonaria punto de corte. Picos: 1, Neral; 2, Geraniol; 3, β -mirceno; 4, Geranial.	83
Figura 12. Cromatograma obtenido por GC-MS. Extracto de limonaria 17 días después de punto de corte irradiado a $0,05\text{Wh.m}^{-2}$ con 15 minutos de adaptación. Picos: 1, Geraniol; 2, Neral; 3, β -mirceno; 4, Geranial.....	86
Figura 13. Cromatograma obtenido por GC-MS. Extracto control de limonaria 17 días después de punto de corte. Picos: 1, Neral; 2, Geraniol; 3, β -mirceno; 4, Geranial.....	86
Figura 14. Cambios comparativos en la composición química de los aceites volátiles obtenidos a partir de muestras de hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (D.C.) Stapf tratado con UV-B	90
Figura 15. Curva de calibración de ácido gálico para método Folin-Ciocalteu	132

Lista de Ecuaciones

Ecuación 1. Índice de retención	49
Ecuación 2. Tiempo de retención	49
Ecuación 3. Porcentaje de rendimiento	56
Ecuación 4. Peso del extracto en gramos	56
Ecuación 5. Contenido de fenoles totales	57
Ecuación 6. Porcentaje de inhibición	59

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Descripción
ABTS	Compuesto 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
ADN	Ácido desoxirribonucleico
APX	Ascorbato peroxidasa
CAT	Catalasa
CFC	Clorofluorocarbonos
DPPH	Compuesto 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DXP	5-fosfato de 1-desoxi-D-xilulosa o fosfato metilleritriol
ERO's	Especies reactivas de oxígeno
FRAP	Sigla derivada del inglés: Ferric ion Reducing Antioxidant Power (poder antioxidante reductor del hierro)
GR	glutación reductasa
HPLC	Por sus siglas en inglés: high performance liquid chromatography (cromatografía líquida de alta eficacia)
H₂O	Agua
H₂O₂	Peróxido de hidrogeno
GC-MS	Sigla derivada del inglés: Gas Chromatography Mass Spectrometry (Cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas)
LPS	Lipopolisacarido
Msnm	Metros sobre el nivel del mar
NO•	Radical óxido nítrico
O⁻²	Anión superóxido
PAR	Sigla derivada del inglés: photosynthetic active radiation (radiación fotosintéticamente activa)
RAW 264.7	Sigla derivada del inglés: Abelson murine leukemia virus-transformed macrophages (Macrófagos transformados por

	el virus de la leucemia murina de Abelson)
RMN	Resonancia magnética nuclear
SOD	Superóxido dimustasa
TAH	Transferencia de átomos de hidrogeno
TE	Transferencia de electrones
UV-A	Radiación ultravioleta A
UV-B	Radiación ultravioleta B
UV-C	Radiación ultravioleta C

Justificación

Uno de los efectos ocasionados por la contaminación ambiental generada por emisiones de gases de efecto invernadero, es la reducción de la capa de ozono en la alta atmósfera; el ozono es un filtro natural contra la radiación ultravioleta emitida por el sol. Esta reducción en la capa de ozono conlleva al aumento de la radiación ultravioleta incidente en los ecosistemas terrestres con efectos nocivos sobre los organismos. La destrucción de la capa de ozono es uno de los problemas ambientales graves que la humanidad debe enfrentar hoy en día, siendo esta una de las limitantes en la producción agrícola.

La polución de origen antropogénico, ha hecho posible evidenciar en las últimas décadas cambios en nuestro planeta, como lo son el aumento de la variabilidad climática con eventos extremos de sequía e inundaciones y un aumento considerable de la radiación UV-B incidente. La radiación UV-B, comprende una pequeña región del espectro electromagnético y su acción sobre plantas y animales es considerable (Carrasco, 2009). Estos fotones se consideran perjudiciales debido a las interacciones destructivas que presentan con moléculas celulares, tales como aminoácidos de proteínas, bases de ácidos nucleicos y lípidos de membranas, es por ello que se perturban procesos metabólicos en las plantas gracias a la luz intensa, procesos como la fotosíntesis, asimilación de glucosa, respiración, y la fosforilación (Duran *et al*, 1993).

Gracias a la captación de dicha energía por la planta, los daños que causa esta exposición pueden ser oxidativos, generados por la reacción con ERO (Especies Reactivas de Oxígeno) formados en las zonas irradiadas (González *et al*, 2009) los cuales actúan como oxidantes biológicos, sin embargo, es importante destacar que el oxígeno divalente (O_2) es el mayor

reductor, la simple adición de un protón da lugar a la formación de H_2O_2 , convirtiéndose este en un agente oxidante muy activo (Martínez, 2007), es por ello que el daño por UV-B, transcurre en buena parte por intermedio de la acumulación de ERO's.

La mayoría de hierbas aromáticas contienen compuestos antioxidantes que son sustancias capaces de retardar la oxidación de los compuestos lipídicos presentes en alimentos, disminuyendo de esta manera su deterioro durante el almacenamiento (Alvis *et al*, 2012), así mismo estos compuestos antioxidantes (compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides) las protegen del daño celular y se ha demostrado que estos compuestos al ser adicionados en la dieta, pueden generar una protección similar en el organismo (Castellanos, 2014).

Las plantas requieren una elevada concentración de antioxidantes, pues el proceso de fotosíntesis da lugar a varios subproductos con una gran cantidad de radicales libres. Los extractos de limonaria son de gran interés de estudio ya que han mostrado sus propiedades antioxidantes empleando barrido con anión superóxido (Olorunnisola *et al*, 2014), así mismo estudios posteriores revelaron que el tanino y las fracciones flavonoides del extracto son agentes anti-oxidantes más activos en comparación con fracción de ácidos fenólicos (Figueirinha *et al.*, 2013).

Gracias a ello el presente estudio busca la generación de nuevo conocimiento frente a las tecnologías de poscosecha, en el caso de la limonaria (*Cymbopogon citratus*), en pro de minimizar las pérdidas de producto y generar mayor calidad en el mismo, conociendo que la radiación UV-B induce un estrés oxidativo a las plantas (Carrasco, 2009), la investigación hará posible el estudio, implementación e interpretación de técnicas de análisis en los extractos de la planta, mediante análisis de métodos que permiten buenas aproximaciones a la capacidad

antioxidante real de la planta, en este caso se emplean los métodos DPPH y ABTS. De igual forma se busca asociar los compuestos principales que están relacionados con el aumento de la capacidad antioxidante, mediante la implementación de técnicas analíticas como los son espectrofotometría UV-vis y la cromatografía de gases acoplada a espectro de masas (GC-MS), así mismo permite también la generación de lazos institucionales por medio de la investigación haciendo posible el fortalecimiento de semilleros y creación de grupos de investigación.

Introducción

La radiación solar se puede considerar como el factor ambiental externo que influye constantemente en la vida del planeta, ya que esta controla el funcionamiento de los ecosistemas terrestres y acuáticos bien sea por procesos fotobiológicos (fotosíntesis, fotoperíodo, fototropismos, etc.), o también como actor principal sobre otros factores ambientales (temperatura, humedad, etc.), más específicamente para las plantas, la radiación solar produce alteraciones en la fisiología de estas, penetrando la hoja y siendo absorbida por los cromóforos o moléculas susceptibles al efecto de la radiación (Carrasco, 2009).

En las plantas el sistema de respuesta a las especies reactivas y los radicales libres está constituido por compuestos antioxidantes, cuando estos mecanismos de defensa no son suficientes para mantener el equilibrio bioquímico de los organismos, se genera una condición conocida como estrés oxidativo (Soriano, 2013). La primera línea de defensa contra el estrés oxidativo en plantas actúa reduciendo la producción de ERO mediante procesos como: (i) adaptaciones anatómicas y fisiológicas; (ii) mecanismos que reorganizan el aparato fotosintético o suprimen la fotosíntesis; (iii) acción de un grupo de enzimas llamadas oxidasas alternativas (AOX) que pueden desviar electrones (e^-) que fluyen a través de las cadenas transportadoras durante la respiración y usarlos para reducir oxígeno divalente (O_2) a agua (H_2O) evitando la formación del anión superóxido $O_2^{\cdot-}$ (Peralta *et al*, 2012).

La mayoría de plantas aromáticas contienen compuestos antioxidantes, algunos conocidos como compuestos fenólicos, especialmente los flavonoides y las antocianinas, que muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo (Kuskoski *et al*, 2005), adicional los carotenoides y flavonoides neutralizan ERO como H_2O_2 , $\cdot OH$ y O_2 (Peralta *et al*,

2012).

Con el pasar de los años se ha incrementado el interés por los antioxidantes naturales, gracias a tres razones principales: (1) baja confianza frente a los antioxidantes sintéticos, (2) la capacidad antioxidante de variedad de sustancias biológicamente activas de origen vegetal, y (3) la concepción sobre el consumo de ciertos agentes fitoquímicos que favorecen el tratamiento de algunas enfermedades crónicas y el proceso de envejecimiento; además, la convicción de seguridad que generan los compuestos naturales respecto a los compuestos sintéticos (Tovar, 2013).

Los extractos de limonaria son ricos en citral, este compuesto está relacionado con la acción digestiva, con la actividad muscular aliviando espasmos y calambres musculares, además de ser utilizado como medicamento para tratar el reumatismo y aliviar el dolor de cabeza (Asaolu *et al*, 2009), es importante mencionar que existen varios metabolitos secundarios generados por esta planta los cuales son de gran interés debido a la presencia de compuestos fenólicos especialmente los flavonoides, los cuales están asociados con una fuerte actividad antioxidante, siendo promisorios en tratamientos anticancerígenos y anti-mutagénicos (Mirghani *et al*, 2012)

Esta investigación tiene como objeto evaluar la variación en el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante en extractos de limonaria (*Cymbopogon citratus*) tratados con radiación UV-B, en dos estados fenológicos y tiempos de adaptación cortos, con el fin de promover el uso de la radiación ultravioleta B como tecnología de poscosecha en plantas aromáticas.

1.Estado del arte

1.1.Caracterización botánica

1.1.1.Clasificación y etimología

El género *Cymbopogon* comprende 140 especies ampliamente distribuidas en todo el mundo, donde se han reportado 45 especies en la india (Geetha *et al*, 2014), este género pertenece a la familia Poaceae (Gramineae) que abarca aproximadamente 800 géneros y 10.000 especies, que predominan en la flora y fisonomía de las vegetaciones abiertas en todo el mundo. La importancia económica de esta familia es incuestionable gracias a su versatilidad de uso (Longhi, 2012). El nombre *Cymbopogon* se deriva de las palabras griegas *kymbe* (Barco) y *pogon* (barba), refiriéndose a la punta de la flor; *Citratus* se deriva del latín antiguo, que significa hojas de limón-perfumadas (Negrelle *et al*, 2007).

1.1.2.Descripción botánica

C. citratus es nativa del sudoeste de Asia (Negrelle *et al*, 2007). Según Olorunnisola *et al*, (2014), se ha vinculado el origen de la limonaria en Asia (Indochina, Indonesia y Malasia), África y las Américas; así mismo Arango (2006) reporta que la limonaria tiene su lugar de origen en India, Ceilán y Península Malaya. Hoy en día es cultivada también en el trópico y subtropico.

Según lo reportado por Shah *et al*, (2016) Esta es una especie vivaz, cespitosa, con un rizoma corto, ramificado. Puede medir hasta 1,50 m de altura, sus hojas son largas y de forma plana (Agriculture, forestry & fisheries, 2012). Le favorece el suelo areno-arcilloso, drenado y profundo, de textura arcillosa, rico en materia orgánica, presenta gran resistencia a la acidez.

Tiene la capacidad de crecer en suelos con textura arenosa, pero que tengan adecuada fertilidad, por ello la calidad y la estructura del terreno ejercen una influencia importante sobre el rendimiento del material vegetal y sus extractos (fundación Chemonics Colombia, 2003). En Colombia, tal como lo menciona Álvarez *et al*, (2014), esta planta es cultivada de 0 a 1900msnm, siendo la zona cafetera el área más representativa, pero también está adaptada a los diversos pisos térmicos del país, es frecuente encontrarlo en avenidas y jardines familiares como planta ornamental y medicinal (Mendoza *et al*, 2010).

1.2.Actividad biológica

La limonaria es considerada como hierba aromática, según lo indica Sousa *et al*, (2010), esta planta muestra un gran número de aplicaciones y es popularmente utilizado por personas en muchos países. En Brasil, por ejemplo, el té, Infusión y extractos de limonaria, que se preparan con hojas frescas o secas, se usan a menudo en la medicina como un restaurador, digestivo, efectivo fármaco contra resfriados, con analgésico, anticardiopático, Antitérmico, antiinflamatorio del conducto urinario, diuréticos, antiespasmódicos. Alvis *et al*, (2012), confirma que recientemente, se ha encontrado que los aceites esenciales de limoncillo y la canela contienen algunas propiedades anti fúngicas y poder antioxidante siendo utilizadas para la conservación de plátanos.

Así mismo, según Alarcón (2011), esta planta presenta usos terapéuticos para el reumatismo, problemas cardiocirculatorios, como antihipertensivo, antiespasmódico, antiasmático, anti fúngico, antibacteriano, diaforético, expectorante, ansiolítico, para problemas de insuficiencia digestiva hepática, celulitis, como antiinflamatorio, sedante y vasodilatador. Indica Mendoza *et al*, (2010) que se usa como anticatarral, febrífugo, antitusivo, estomáquico, carminativo, y

ansiolítico, para aliviar el vómito, como depresor del sistema nervioso central y para disminuir el colesterol. Se reporta también como antipalúdico, diaforético y estimulante, diurético y en el control de la presión arterial.

Diversos estudios explican la actividad antitumoral y anticancerígena de extractos de limonaria, por ejemplo Kauder *et al*, (1991), citado por Negrelle *et al*, (2005) reporta que el mirceno presenta actividad antimutagenica en células mamarias, los compuestos vegetales, alfa-limoneno y geraniol, mostraron inhibición del cáncer en hígado y de membrana mucosa intestinal en ratones, así mismo Balboa y Lim, (1995), citado por Negrelle *et al*, (2005) mencionan que los jugos derivados de la limonaria contienen inhibidores de la fase de desarrollo de los tumores cutáneos. Ghosh, (2013), reporta que el extracto de limonaria y las emulsiones de citral inician la muerte de células cancerosas de cuello uterino (HeLa y ME-180) controlando su desarrollo y crecimiento.

Respecto a actividad antipalúdica, Tchoumbougnang *et al*, (2005), citado por Shah *et al*, (2011) reporta que los extractos de *Cymbopogon citratus* suprimen el crecimiento del parásito que causa la malaria en roedores (*Plasmodium berghei*) en un 86,6%, comparado con el fármaco cloroquina la cual trata y previene la malaria en un 100%.

Para definir las propiedades antiinflamatorias de los extractos de limonaria, inicialmente se realizan estudios in vitro donde se suele evaluar la actividad sobre la producción de mediadores de la inflamación en líneas celulares. Normalmente, se determina la capacidad de los extractos para capturar el radical óxido nítrico (NO•) liberado por las células, y estimulado con un agente inflamatorio. Acorde a lo anterior, Ferreira (2015) en su estudio reporta que una infusión de *C. citratus* inhibió el radical (NO•) producido por RAW 264.7 (macrófagos transformados por el

virus de la leucemia murina Abelson) activados con lipopolisacárido (LPS), aunque en menor medida que el té verde, pero aun así la infusión de *C. citratus* continúa siendo el extracto polar más estudiado. Esta actividad antiinflamatoria se atribuye principalmente a sus polifenoles, Flavonoides mono- y poliméricos, glucósidos de luteolina y taninos condensados, respectivamente.

Para su actividad antimicrobiana, Manvitha *et al*, (2013), refieren que los extractos etanólicos de limonaria muestran propiedades antibacterianas potenciales contra *Staphylococcus aureus* (esta es una bacteria anaerobia causante de diversos procesos infecciosos que van desde infecciones cutáneas hasta enfermedades sistémicas mortales). Flavonoides y taninos encontrados en los extractos de limonaria fueron atribuidos como responsables de esta actividad.

Se ha identificado el potencial antioxidante de los extractos de limonaria y sus habilidades para reducir las ERO, por ejemplo, en estudios realizados por Olorunnisola *et al*, (2014) los cuales reportan que la infusión de limonaria muestra actividad antioxidante más fuerte en comparación con otros métodos de extracción (metanol, etanol acuoso al 80% y decocción).

1.3.Extracto de limonaria y su composición química

En general, los extractos de plantas son productos formados por la mezcla de numerosas sustancias, con una composición química bastante compleja, obtenidos a partir del metabolismo secundario de las plantas. Son lípidos simples sin ácidos grasos, y están compuestos por sustancias volátiles (Martínez, 2008).

Según Skaria *et al*, (2007) el aceite de la limonaria o hierba de limón es un líquido viscoso, de color amarillo o de color oscuro, se pone rojo durante un almacenamiento prolongado, el cual en

presencia de agua toma un aspecto turbio; y como menciona Khila (2010) el aceite aromático de sus hojas, contiene 70-90% de citral (el aldehído responsable del olor a limón), afirma Lewinsohn *et al*, (1998) que debido a su característico aroma de limón, el citral es de considerable importancia en la industria de alimentos pues es empleado como materia prima en la industria farmacéutica, en el proceso de síntesis de la vitamina A (Soto *et al*, 2002).

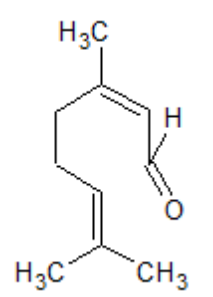
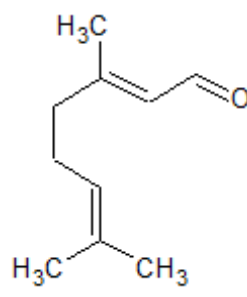
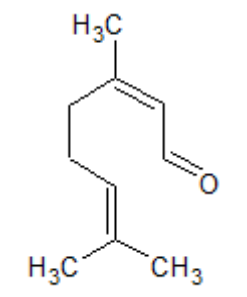
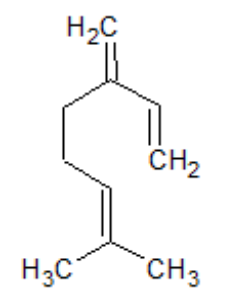
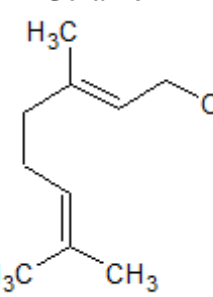
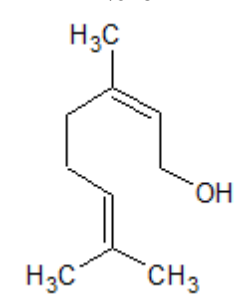
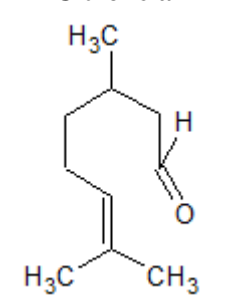
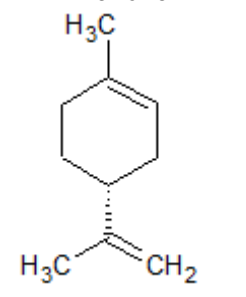
Acorde con Daniel (2015) el aceite volátil de limonaria además de ser rico en citral (figura 1), contienen también flavonoides (luteonil, isoorietina y orientina), ácidos fenólicos (clorogenico, ácido cafeico y cimarina) triterpenoides como cymbopogona y cymbopogonol, adicional otros de sus componentes son el limonero, geraniol, mirceno y citronelol, la figura 1 muestra los principales constituyentes del extracto de limonaria. Así mismo, menciona Ferreira (2015) que se ha revelado la presencia de otros grupos menores de fitoquímicos, a saber, alcaloides, saponinas, antraquinonas y esteroides en hojas de limoncillo, en la tabla 1 se resumen los compuestos identificados en los extractos de limonaria.

Tabla 1. Fitoquímicos reportados en la Limonaria (*Cymbopogon citratus*) Fuente, (Ekpenyog *et al*, 2014)

Fitonutrientes		Contenido mineral	
Taninos	Saponinas	Sodio	Potasio
Flavonoides	Alcaloides	Calcio	Magnesio
Esteroides	Aceite esencial	Hierro	Zinc
Fenoles		Fosforo	
Aceite esencial			
Citral	Burneol	β -Bergamotene	Isolongifolene-4-5-9-10-dehidro levo – β -elemene
α -terpineol	β -Mirceno	γ -Muurolene	α -Gurjunene

β -O-Cimene	Alo-o-cimene	α -Muurolene	α -Amorphene β -Sesquiphellandrene
α -pinene oxido	Mircenol	α -Farmeceno	α -Elemol
<i>t</i> -Muurol	Linalol	d-Cadineno	Germacrene-D
3-octin-3-ol	<i>Trans</i> -chyssanthemal	Valenceno	Viridiflorol
3-Undecyne 3-carvomentanona	Citronela	α -Selineno	Humuleno
Neral	<i>Trans</i> -(-)-Carveol	α -Guaiene	<i>t</i> -Cadinol
Geranial	Nerol	β -Eudesmol	Farmesal pimelil dihidracida
Citronelol	Metil-n-nonil-cetona	Di-n-Octilftalato	Acetato geranico
Dextro-carvona	Ácido genarico		

Figura 1. Estructura química de los principales constituyentes del aceite esencial de Limonaria (*Cymbopogon citratus*). Fuente, (Adaptado de Gagan *et al*, 2011)

Citral 	Geranial 	Neral 	Mirceno 
Geraniol 	Nerol 	Citronelal 	Limoneno 

Según Alvis *et al*, (2012), en la hoja de *C. citratus* se han identificado algunos compuestos antioxidantes entre los cuales se destacan; isoorientina 2-O-ramnósido, isoorientia y swertiajaponina este último con mayor capacidad antioxidante.

1.4.Obtención del extracto

Según menciona Ekpenyong (2014), la obtención de extractos de plantas puede llevarse a cabo por diversos métodos tales como hidrodestilación, destilación por arrastre de vapor, extracción de líquido a presión, extracción por método Soxhlet; tomando como disolventes agua, hexano, cloroformo y la mezcla de metanol/etanol.

Se evidencian investigaciones como las realizadas por Mirghani *et al*, (2012); Blanco *et al*, (2009); Vásquez *et al*, (2015) en las cuales el método utilizado para la extracción de aceite esencial de limonaria fue la hidrodestilación con aparato clevenger, por ser esta una técnica eficaz y de implementación a escala de laboratorio.

1.4.1.Hidrodestilación- Cohobación

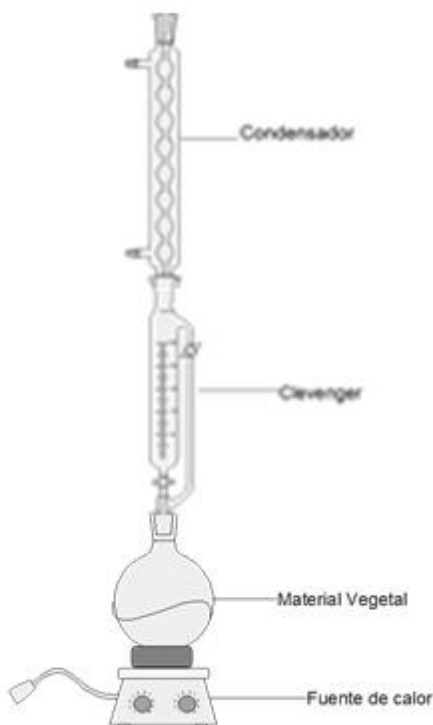
En los métodos de separación, cuando se usa vapor saturado como medio de arrastre y la materia prima está en contacto directo con el agua generadora del vapor, se denomina método de hidrodestilación (Cerpa, 2007). Tal como lo menciona Contreras (2010) este método se fundamenta en llevar a estado de ebullición el agua, para que ingrese a los tejidos de la planta y disuelva una parte del aceite esencial presente en las estructuras contenedoras; esta disolución acuosa se difunde a través de las membranas de las células y el aceite se vaporiza inmediatamente desde la superficie, luego los gases viajarán a través de los conductos del equipo Clevenger hasta llegar al condensador, en donde son regresados a su fase líquida. Este proceso se

prolonga hasta obtener la mayor cantidad de aceite presente en las glándulas de la plata, de tal manera, que los vapores generados puedan ser condensados y colectados.

Complementando el proceso de hidrodestilación, indica Fernández *et al*, (2012), que el equipo clevenger empleado, se caracteriza por ser un sistema cerrado en donde el solvente o material extraído son "devueltos o retornados" al balón de destilación en un proceso que se repite hasta que se haya considerado la total extracción del aceite esencial, este sistema permite integrar todas las etapas del proceso de destilación, incluyendo la vaporización, la condensación y la decantación. Esta "devolución o retorno" es lo que se conoce como cohobación; en general, el aparato clevenger se utiliza para la destilación de cantidades pequeñas (hasta 1.0 Kg) de material vegetal en el laboratorio (Skaria *at al*, 2007).

Indica Albarracín *et al*, (2003), que los tiempos de destilación varían en función de los compuestos que contiene el extracto, por ello los tiempos de destilación serán más prolongados si la planta presenta compuestos con puntos de ebullición altos, así mismo la coloración de estos es más oscura, con respecto a extractos obtenidos por otros métodos.

Figura 2. Montaje método de hidrodestilación con aparato tipo clevenger



1.5. Metabolismo secundario

Las células realizan un conjunto de reacciones químicas con el fin de sintetizar sustancias complejas a partir de unas más simples, o viceversa, a esto se le conoce como metabolismo, (García *et al*, 2009) .Menciona Geetha *et al*, (2014), que las plantas sintetizan una amplia gama de compuestos químicos que se clasifican en función de sus propiedades químicas, clase, origen biosintético y grupos funcionales en metabolitos primarios y secundarios, donde estos últimos se sintetizan durante el metabolismo secundario de las plantas; refiere Avalos *et al*, (2009) que las plantas designan una parte importante del carbono asimilado y de su energía a la síntesis de algunos compuestos que aparentemente no presentan una función directa en procesos

fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, a estos compuestos se les denomina metabolitos secundarios.

Ferreira (2015) indica que todos los componentes de las plantas se derivan del metabolismo de los carbohidratos sintetizados durante la fotosíntesis de CO_2 y H_2O . El metabolismo secundario sirve para mantener el metabolismo básico en aquellas circunstancias en las que los sustratos normales no pueden ser utilizados para el desarrollo normal de la célula, por falta de nutrientes, así mismo indica Ramírez (2016) que la síntesis de metabolitos secundarios se lleva a cabo durante determinadas fases del desarrollo de la planta, es por ello y según Valares (2011), que el crecimiento de las plantas y la velocidad fotosintética pueden verse afectada por la oferta edafoclimática del medio de desarrollo, como la falta de nutrientes y carencia de agua, en tales condiciones, carbohidratos no estructurales se pueden acumular, provocando un incremento en la síntesis de sustancias de defensa en el metabolismo secundario. Menciona Tenorio *et al*, (2006), que este tipo de compuestos denominados también como productos naturales presentan un considerable valor medicinal y económico, éste último gracias a su empleo en la industria cosmética, alimentaria, farmacéutica.

Se consideran a los fenoles, terpenoides, alcaloides (compuestos nitrogenados) como una clasificación de los compuestos que forman parte del metabolismo secundario (Valares, 2011), donde las rutas de síntesis de los compuestos de mayor interés farmacognóstico, de acuerdo con Fernández (2005) son:

1. Ruta de ácido shikímico,
2. Ruta del mevalonato que da lugar a los terpenoides

3. Rutas del metabolismo del nitrógeno, principalmente aminoácidos, que llevan a la síntesis de alcaloides

4. Ruta del ácido malónico que conlleva a la síntesis de fenoles en hongos y bacterias
Avalos *et al*, (2009)

Ferreira (2015) menciona que la ruta del ácido shikímico es responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de plantas, consiste en la síntesis del ácido 3-deshidroshikímico a partir de la glicólisis de fosfoenolpiruvato y de la eritrosa 4-fosfato que proviene de la vía pentosa fosfato. El ácido shikímico puede conducir a la síntesis del corismato, participa así en la vía de aminoácidos aromáticos, como triptófano, fenilalanina y tirosina. La fenilalanina formada por la vía shikimato origina otra importante ruta biosintética de los compuestos fenólicos, específicamente ácidos fenólicos y flavonoides y derivados.

Indica Ramírez (2016), que los compuestos fenólicos se diferencian por presentar al menos un anillo aromático unido a al menos un grupo funcional hidroxilo. Un subgrupo de estos compuestos fenólicos son los flavonoides, su esqueleto carbonado contiene 15 carbonos ordenados en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos (Avalos *et al*, 2009), Refiere Tenorio *et al*, (2006), que estos son sintetizados a partir de aminoácidos, carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos que aparentemente no son indispensables en la vida de las plantas, pero su importancia radica según Cartaya *et al*, (2001) en las funciones de estos en las plantas resumidas en tres grupos: papel de defensa, papel de señal química y efecto sobre las enzimas, complementa Tenorio *et al*, (2006) que estos actúan en la formación de pigmentos, como filtro solares, antioxidantes, inhibidores enzimáticos, precursores de sustancias tóxicas, así mismo están involucrados en mecanismos de fotosensibilización y de transferencia de energía, que permiten regular la fotosíntesis, las reacciones de crecimiento, de control de la respiración, la

determinación sexual y la defensa contra infecciones. Estos compuestos están presentes en todos los órganos de las plantas, principalmente en hojas y botones florales, según lo indica Carvajal (2005) los flavonoides presentan propiedades antioxidantes gracias a su capacidad de transferencia de electrones y a su capacidad para quelar metales.

Menciona Avalos *et al*, (2009), que los terpenos, o terpenoides, constituyen el grupo más grande de metabolitos secundarios (más de 40.000 moléculas diferentes), donde La unidad estructural básica de los terpenoides es el isopreno (2-metil-1,3-butadieno), constituido por cinco átomos de carbono. Su unión sucesiva da lugar a los distintos tipos de terpenos conocidos. De esta forma los compuestos con un sólo isopreno son los hemiterpenos (C₅), monoterpenos los de dos (C₁₀), sesquiterpenos los de tres (C₁₅) y así sucesivamente (Pala, 2002). Refiere Sepúlveda *et al*, (2003) que la síntesis se puede llevar a cabo por dos vías, una es la ruta del mevalonato que se lleva al cabo en el citoplasma y la otra se denomina como la ruta DXP (5-fosfato de 1-desoxi-D-xilulosa o fosfato metilleritriol), para biosíntesis de monoterpenoides, diterpenoides y tetraterpenoides la cual es independiente de la del mevalonato y que se realiza en los plástidos (McMurry, 2012). Los terpenos más comunes en los aceites esenciales son aquellos de menor peso molecular, y por lo tanto más volátiles, es decir, monoterpenos y sesquiterpenos (Pala, 2002). Su interés es gracias a sus características funciones indicadas por Morales (2013) tales como pigmentos, hormonas, constituyentes de membranas y agentes de defensa contra patógenos, entre otras.

Menciona Ramos *et al*, (1998) que los alcaloides son, en su definición fundamental, compuestos heterocíclicos con nitrógeno y, como su nombre indica, sustancias generalmente de carácter básico, aunque existen muchas excepciones, generalmente se sintetizan a partir de aminoácidos, tales como triptófano, tirosina, fenilalanina, lisina, arginina y ornitina. Menciona

Oliveira *et al*, (2009), que esta clase de sustancias del metabolismo secundario es famosa por la acentuada acción sobre el sistema nervioso central, siendo muchos de ellos utilizados como venenos o alucinógenos, complementa Sepúlveda *et al*, (2003), indicando que la síntesis de alcaloides aumenta en respuesta al daño generado por los insectos depredadores, donde su efecto tóxico está dado por su capacidad de bloquear neuroreceptores, intermediarios de la transducción de la señal neuronal y canales iónicos de vertebrados e insectos, pero sus efectos inhibitorios en el crecimiento de microorganismos patógenos radica en su capacidad de intercalarse con el ADN, de suspender la síntesis de proteínas, estimular la apoptosis e inhibir las enzimas del metabolismo de carbohidratos. Algunos alcaloides son usados como fármacos anticancerígenos y otros más incluyendo a la morfina como potentes analgésicos (Cruz *et al*, 2012)

1.6.Radiación UV-B y su efecto en las plantas

1.6.1.Radiación UV-B

Indica Vallejo *et al*, (2013), que el descubrimiento de la radiación ultravioleta (UV) y sus propiedades fue un proceso gradual, que tardó tres siglos e involucró a científicos de diversos países. En el siglo XX, los avances en fotofísica y fotoquímica permitieron comprender mejor el comportamiento de las radiaciones electromagnéticas, así como la relación de los rayos UV con la luz solar, incluyendo el filtro que ejercía la capa de ozono sobre la mayor parte de radiación UV. Adicionalmente, sus propiedades permitieron clasificarla y demostrar la acción que ejerce sobre los seres vivos.

Menciona Bernal (2016) que la radiación ultravioleta (UV) proviene de la luz del sol y es considerada como una forma de energía electromagnética, la cual según su longitud de onda se

diferencian tres bandas de radiación conocidas como UV-A, UV-B y UV-C. Cada una presenta propiedades diferentes de penetración y daño potencial, los efectos biológicos que pueden llegar a provocar dependen de su longitud de onda, es decir entre más corta sea esta, mayor es la energía de la radiación, mientras tanto Carrasco (2009), indica que alrededor de un 40% de radiación visible es la que ingresa al planeta, emitida por el sol con longitudes de onda que oscilan entre los 280 a 1000 nm, comprendiendo las formas de radiación conocidas como UV-B (280-320 nm) así como sus otros componentes, radiación UV-C, comprendida entre los 200 y 280 nm, y la UV-A entre los 330 y 400 nm.

Según Soriano (2013) la radiación solar es un factor trascendental en las plantas ya que son organismos fotoautótrofos, totalmente dependientes de la luz como fuente de energía, considerándose de importancia biológica ya que es capaz de producir en plantas, alteraciones morfológicas, fisiológicas y bioquímicas (Vera *et al*, 2014).

1.6.2.Efectos de la radiación UV-B sobre la morfología y anatomía de las plantas

La capa de ozono es el principal agente que absorbe la radiación UV-B de la atmósfera terrestre. La reducción de esta capa se debe, entre otros factores, a contaminantes atmosféricos como los clorofluorocarbonos (CFC), metano y óxido nítrico, los cuales han inducido un aumento en la radiación UV-B que ingresa a la tierra (Bernal, 2016). Menciona Requena *et al*, (2008), que a partir del año 1989, con motivo de la observación del agujero de ozono en la Antártida, se han llevado a cabo estudios sobre el efecto de la radiación UV-B en cámaras de cultivo, invernaderos y en el campo, irradiando a las plantas con radiación UV-B adicional, pretendiendo simular los efectos de la disminución de la capa de ozono.

Indica Bernal (2016), que la respuesta de las plantas ante la radiación UV-B, se ve influenciada por la naturaleza de la radiación, la clase de tratamiento, su adaptación a estos, así como la interacción con otros factores ambientales. Se conoce que la radiación UV-B inhibe la expansión de la superficie foliar de las plantas, que atribuye consecuencias en su crecimiento y acumulación de biomasa, al comprar plantas que crecen bajo incidencia de radiación UV-B y sin ella, se hace frecuente encontrar diferencias en la tasa de expansión foliar y en el ritmo de incremento de peso. Las plantas compiten entre ellas cuando crecen bajo condiciones de alta densidad, donde las plantas más altas llevan la ventaja ya que pueden capturar más luz, considerándose el alargamiento como un aspecto morfológico importante su competencia (Ballare, 1996).

En términos generales los efectos observados se resumen en una reducción del tamaño de las plantas, área de las hojas, peso fresco y seco, contenidos lipídicos y actividad fotosintética, así como alteraciones en los pigmentos que absorben la radiación y en la conductancia difusa del vapor de agua a través de las estomas (Requena *et al*, 2008). La radiación UV-B causa alteraciones morfológicas en las plantas, donde se evidencia un aumento en número de ramas y hojas, reducción en la longitud de tallo y tamaño de las hojas, indica Carvajal (2005) que estas pueden ser reguladas indirectamente vía flavonoides y auxinas, en la tabla 2 se relacionan los diferentes efectos de la radiación UV-B en las plantas a nivel molecular, bioquímico y fisiológico.

Tabla 2. Efectos de la radiación UV-B en plantas a nivel molecular, bioquímico y fisiológico. (Tomado con modificaciones de: Bernal, 2016)

Efectos de la radiación UV-B en plantas a nivel molecular, bioquímico y fisiológico	
ADN	Formación de dímeros de bases pirimidínicas (dímeros ciclobutano pirimidina o CPD). Inducción de mecanismos de reparación
Fotosíntesis	Degradación de proteínas del fotosistema II. Destrucción de clorofila y carotenoides. Daño a la membrana tilacoidal.
Membranas	Peroxidación de lípidos
Metabolitos secundarios	Acumulación de pigmentos de protección a UV-B
Respuesta al estrés	Formación de ERO. Inducción de Superóxido dimustasa (SOD), Ascorbato peroxidasa (APX), catalasa (CAT), glutatión reductasa (GR).
Fotomorfogénesis	Morfología y anatomía. Reducción del área superficial de la hoja. Internodos más cortos. Reducción de biomasa, rendimiento del cultivo.

1.6.3. Radiación UV-B sobre procesos fotoquímicos y metabólicos

Las plantas no son organismos estáticos y, al igual que muchos otros, buscan variedad de recursos para protegerse de niveles altos de radiación ultravioleta. Uno de estos recursos indica Ballare (1996), es la síntesis y acumulación de pigmentos fotoprotectores en la epidermis de las hojas y de otros órganos expuestos al sol, estos pigmentos son denominados flavonoides los cuales se acumulan en la epidermis y absorben radiación ultravioleta, permitiendo reducir la cantidad de radiación que penetra al resto de los tejidos.

Los efectos de la UV-B menciona Zlatev *et al*, (2012), en la fotosíntesis ofrecen un medio conveniente para dar respuestas de reparación, aclimatación y tolerancia a la UV, donde se ha evaluado el papel de los pigmentos en proteger el metabolismo de los cloroplastos contra la radiación UV-B en presencia o ausencia de un fondo de la radiación fotosintéticamente activa PAR (sigla derivada del inglés: *photosynthetic active radiation*) utilizando la proteína D1-

D2 sensible a los rayos UV. La atenuación UV-B se atribuye principalmente a flavonoides y compuestos fenólicos relacionados que absorben eficazmente la radiación UV-B mientras transmiten PAR a los cloroplastos.

Según Duran *et al*, (1993), los daños fotoquímicos en las células empiezan por la captación de la energía electrónica de un fotón por una molécula capaz de absorber energía UV, normalmente, la energía absorbida pasa a la molécula que ha servido de blanco de su estado normal a otro excitado electrónicamente, por ello y según Martínez (2007) se hace importante conocer que los radicales libres o ERO (especies reactivas de oxígeno) actúan como oxidantes biológicos, donde el mayor reductor es el oxígeno diatómico (O_2) y al adicionar un protón se da lugar a la formación de H_2O_2 , siendo este un agente oxidante muy activo, menciona Kohen *et al*, (2002). Estas especies reactivas son radicales, como el óxido nítrico ($NO\cdot$), superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroxilo ($OH\cdot$), peroxilo ($ROO\cdot$), alcoxilo ($RO\cdot$) y una forma de oxígeno singlete (1O_2), porque contienen al menos 1 electrón no emparejado al alrededor del núcleo atómico y son capaces de existir independientes y la aparición de un electrón no emparejado es resultado de la alta reactividad de estas especies por su afinidad a donar u obtener otro electrón para lograr estabilidad, así mismo Navarrete *et al*, (2012) indica que el daño por UV-B, transcurre en buena parte por intermedio de la acumulación de ERO, que pueden oxidar componentes como fosfolípidos de membranas, formando peróxidos e inducir daño en cloroplastos y mitocondrias, daño a proteínas, pigmentos fotosintéticos, así como pueden ocurrir alteraciones en el ADN, y cambios en la absorción mineral, lo cual conduce a alteraciones generales del crecimiento y desarrollo de las plantas (Castillo, 2013).

Pérez *et al*, (2013) indica que la radiación UV-B produce una reducción en la producción de oxígeno en las plantas, induciendo la producción de radicales libres en las membranas tilacoidales, principalmente iones hidroxilo y compuestos metil-carboxilados, es por ello que la radiación UV-B favorece la formación de ERO como resultado de la alteración metabólica y deterioro de transporte electrónico fotosintético o debido a una mayor actividad de la membrana localizada NADPH oxidasas y peroxidasas según lo mencionado por Müller *et al*, (2014); también indica Indrajith *et al*, (2009) que las plantas eliminan especies reactivas del oxígeno por el mecanismo de desintoxicación producido por la enzima antioxidante tal como catalasa, peroxidasa, superóxido dismutasa y fenilalaninas, amoníaco-liasa, etc.; así mismo Hideg *et al*, (2013), indica que los niveles tanto bajos como altos de UV- B pueden cambiar el metabolismo antioxidante de las plantas (es decir, cambiar el tamaño y / o el estado de oxidación- reducción de las reservas de ascorbato, glutatión y tocoferol, e inducir acumulación de flavonoides y fenoles relacionados, que son fuertes antioxidantes celulares).

Además de las afectaciones negativas mencionadas anteriormente generadas por la radiación UV-B en las plantas, se ha documentado por Navarrete *et al*, (2012) que también induce cambios metabólicos que ayudan a la planta a contrarrestar sus efectos nocivos, tales como la acumulación de flavonoides y otros metabolitos que absorben UV-B en la epidermis, mientras tanto menciona Vera *et al*, (2014) que las plantas que crecen bajo exclusión de radiación UV-B (invernaderos, túneles, films plásticos, etc.) pueden generar una cantidad menor de metabolitos secundarios, en relación con aquellas plantas que crecen en el campo o que son irradiadas con UV suplementaria, estos metabolitos secundarios indica Paladino *et al*, (2008), como por ejemplo los compuestos fenólicos se sitúan en todas las partes de las plantas, con una concentración que varía a lo largo del ciclo vegetativo, estos entre muchas propiedades están

asociados a la actividad antioxidante de los alimentos de origen vegetal; Hangen *et al*, (2007) indica que la radiación UV-B genera la acumulación de compuestos fenólicos en las células epidermales de la planta, reduciendo así la penetración de radiación que provocaría efectos nocivos en los diferentes componentes celulares. Compuestos como los flavonoides son capaces de absorber entre 90 y 99% de la radiación UV-B incidente, sin interferir en la captación de radiación fotosintéticamente activa (PAR).

Menciona Ravidran *et al*, (2010), que, para el caso de los flavonoides, estos generalmente absorben la luz en la región de 280 -320 nm, y por lo tanto son capaces de actuar como un filtro UV, protegiendo de este modo los tejidos fotosintéticos del daño. Los flavonoides se estabilizan y protegen la fase lipídica de la membrana tilacoidal, y son extintores del estado triplete excitado de la clorofila y oxígeno singlete. Además de los flavonoides, los carotenoides también tienen propiedades antioxidantes, propiedades que actúan como un filtro interno contra la radiación UV-B; gracias a que la radiación UV-B impulsa la respuesta de la enzima clave reguladora "fenilalanina amonio liasa" que es una enzima importante de la ruta de la biosíntesis de los flavonoides y transcripcionalmente inducida por el tratamiento con UV (Kumari *et al*, 2013).

Menciona Requena *et al*, (2008) que la enzima rubisco (ribulosa bifosfato carboxilasa) que es la enzima clave en el ciclo de Calvin, es muy sensible a la radiación UV: un día de exposición a UV-B provoca una disminución de la actividad enzimática de un 40%. Cuando se suman una elevada irradiación UV-B con una temperatura de unos 35°C, la foto inhibición y el daño directo de la UV-B son aditivos, aumentando el impacto sobre la actividad fotosintética. El proceso de depooxidación del violaxanteno es un mecanismo que protege, porque el exceso de energía lo disipa en forma de calor y se ha detectado que un flujo elevado de UV-B provoca inhibición de este mecanismo protector, agravando el daño ocasionado por la radiación UV-B.

1.6.4. Radiación UV-B como elicitador físico

El termino elicitador se asigna a moléculas o estímulos capaces de activar respuesta de defensa en las plantas (Riveros, 2010). Refiere Piñeros *et al*, (2009) que existen elicitores bióticos agentes naturales (quitosan, micelio de hongos, bacterias y levaduras) y abióticos como agentes físicos y químicos (temperatura, luz UV, sales de metales pesados, pH, etc.). Es por ello y según menciona Fisher *et al*, (2012) una radiación moderada de UV-B puede estimular la síntesis de compuestos bioactivos como una respuesta de defensa, de acuerdo con Brown *et al*, (2008), empleando bajas dosis de radiación UV-B, esta es capaz de promover cambios metabólicos y de desarrollo en las plantas, tales como la biosíntesis de metabolitos secundarios fenólicos y la inhibición de la elongación del hipocotilo, así mismo estimula la expresión de una gama de genes que ayudan a proteger las plantas contra los rayos UV o para aminorar sus efectos nocivos.

Menciona Ramírez (2016) que la aplicación en poscosecha de elicitores genera un aumento en la síntesis de fitoquímicos en frutas y hortalizas, mejorando las propiedades activas de materiales vegetales, así como aumentar los rendimientos del aceite en procesos de extracción, convirtiéndose en una alternativa para la industria, ya que se logra mejorar el contenido de sustancias fotoquímicas. Ortiz (2016) resalta que para mejorar la eficacia de un elicitador aplicado en poscosecha se debe tener en cuenta el tiempo de exposición a la fuente de radiación (dosis del elicitador), así como su mecanismo de exposición, por ejemplo, dosis bajas pueden no suscitar efecto alguno en el metabolismo, o por el contrario dosis altas pueden desencadenar muerte celular.

1.7. Actividad antioxidante de las plantas y métodos para su determinación.

Peralta *et al*, (2012) indican que el incremento y/o acumulación de ERO representa una amenaza para los procesos fisiológicos y bioquímicos de las plantas, es por ello que los niveles celulares de ERO son estrictamente regulados por una compleja red de defensa antioxidante de las mismas, la cual actúa controlando las cascadas de oxidación y protegiendo a las células contra daños oxidativos. Según Martínez (2007) la reducción del daño oxidativo es posible gracias a la prevención o inhibición de una cadena de propagación oxidativa que se lleva a cabo por la estabilización del radical generado y la regeneración del antioxidante radicalario, siendo esto la principal función de un compuesto antioxidante.

Según Uribe (2010), debido a la acción de los radicales libres, se han establecido varios métodos para evaluar la actividad antioxidante de los compuestos, a través de fuentes generadoras de radicales libres, esto es gracias a que un gran porcentaje de la oxidación es inhibida por la captura de radicales libres, indica Quintanar *et al*, (2009) que estos métodos se fundamentan en identificar cómo en un sustrato oxidable se genera un daño oxidativo por la acción de un agente oxidante donde el daño es inhibido o reducido por un compuesto antioxidante. Los métodos para medir actividad antioxidante según Londoño (2012), se clasifican en directos e indirectos, los métodos directos se fundamentan en el efecto del antioxidante sobre la degradación oxidativa de un sistema (ej: lípidos); por su parte los métodos indirectos indican la capacidad que presenta un compuesto antioxidante para estabilizar radicales libres, métodos como ABTS, DPPH, y FRAP, estos métodos son utilizados para determinar la capacidad de captación de radicales libres haciendo uso de los compuestos fenólicos presentes en frutos y plantas, los cuales operan en contra de los procesos de oxidación que implican especies

reactivas de oxígeno. Los métodos más aplicados son ABTS y DPPH, ya que ambos presentan una excelente estabilidad, son simples y de rápido análisis (Kuskoski *et al*, 2005), adicionalmente de acuerdo con Uribe (2010) estos métodos presentan una reacción simple, que sólo involucran una reacción entre el radical y el antioxidante; además ambos métodos tienen la ventaja de que pueden ser utilizados en solventes orgánicos acuosos y no polares, refiere Londoño (2012), que estos métodos se fundamentan en la estabilización de radicales libres sintéticos metaestables, cuya reacción con un antioxidante genera un cambio que puede ser detectado instrumentalmente, combinando los mecanismos de transferencia de tomos de hidrogeno (TAH) el cual mide la capacidad de un antioxidante para estabilizar un radical libre mediante la transferencia de átomos de hidrógeno, y la transferencia de electrones (TE) que determina la capacidad de un antioxidante para transferir un electrón y reducir un compuesto. En la literatura, la actividad antioxidante puede, entre otros factores, depender de la posición y número de hidroxilos en la molécula, concentración de compuestos fenólicos, y de la presencia de metales de transición (Jiménez *et al*, 2012).

Menciona Torrenegra (2014), que tanto la naturaleza del sustrato, posible interacción del reactivo con otros compuestos, iniciación de la oxidación, estructura física del sistema, método de evaluación de la oxidación, son causas que pueden llegar a influir en la reproducibilidad y medida de los resultados, por ende, los resultados obtenidos por variedad de métodos no pueden ser comparables.

1.7.1.Ensayo DPPH

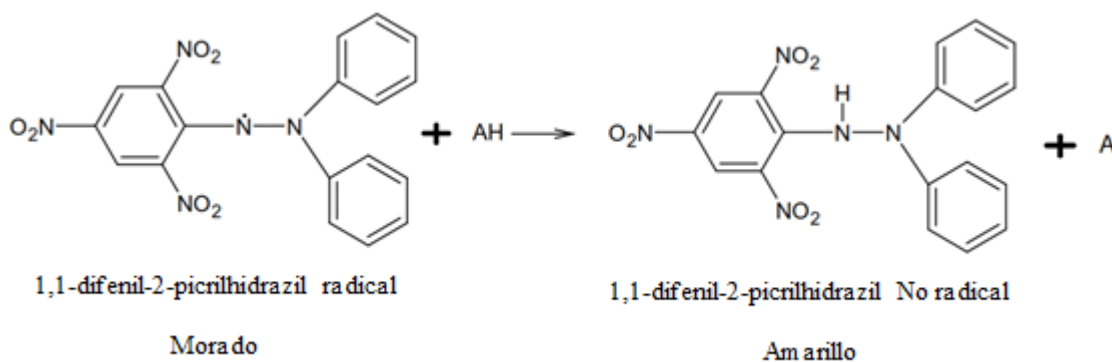
Este es un método de fácil aplicación y bastante sensible, donde el radical DPPH corresponde a un nitrógeno orgánico y de alta disponibilidad (Brand *et al*, 1995). Indica

Jiménez *et al*, (2012), que el método de captura del radical DPPH es utilizado desde hace muchos años, por numerosos autores que han ido realizando adaptaciones del mismo a la matriz alimentaria de la que quieren obtener información, este método fue planteado por Brand-Williams y sirve para determinar la capacidad antioxidante con base en la disminución de color (Rodríguez *et al*, 2015), así mismo menciona Ramírez (2013) que este método se caracteriza por la presencia de un antioxidante donador de hidrogeno, en el cual el radical DPPH es un aceptor de hidrogeno estable, evidenciándose el efecto antioxidante por medio de la decoloración del radical DPPH en las muestras de ensayo tornándose de púrpura a amarillo gracias a la absorción del hidrogeno del antioxidante. El mecanismo de reacción se presenta en la figura 3.

Para la medición de esta decoloración se utiliza un espectrómetro UV donde el máximo de absorción para las lecturas de las muestras es a 515 nm (púrpura). Menciona Kedare *et al*, (2011) que el DPPH es un radical estable gracias a la deslocalización del electrón sobre la molécula como un todo, de modo que las moléculas no se dimerizan, como la mayoría de los otros radicales libres. Indica Orjuela (2015) que la deslocalización del electrón también se intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 515 nm. Cuando la solución de DPPH[•] reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrogeno, el color violeta se desvanece. Refiere Londoño (2012) que la reacción de estabilización se considera que transcurre principalmente mediante un mecanismo TE, con un aporte marginal de TAH. La actividad antioxidante de un extracto análisis es expresada en μ moles de equivalentes de Trolox por cada 100 g de extracto (TE/100 g). Se considera como medida de la actividad antioxidante de los ensayos de estudio la variación en la decoloración de los radicales DPPH que se revela a través de tiempo (Huang *et al*, 2005).

Afirma Santacruz (2011), que, entre las ventajas de usar este método, se tiene que el ensayo DPPH es un método rápido y sencillo y que no requiere de un equipamiento sofisticado. La desventaja que tiene este método es que sólo puede disolverse en medio orgánico y en algunos casos la interpretación resulta complicada, ya que algunos antioxidantes pueden causar interferencias si poseen un espectro de absorción similar al DPPH.

Figura 3. Reacción entre antioxidante (A) con el radical DPPH. (Adaptado de Tovar, 2013)

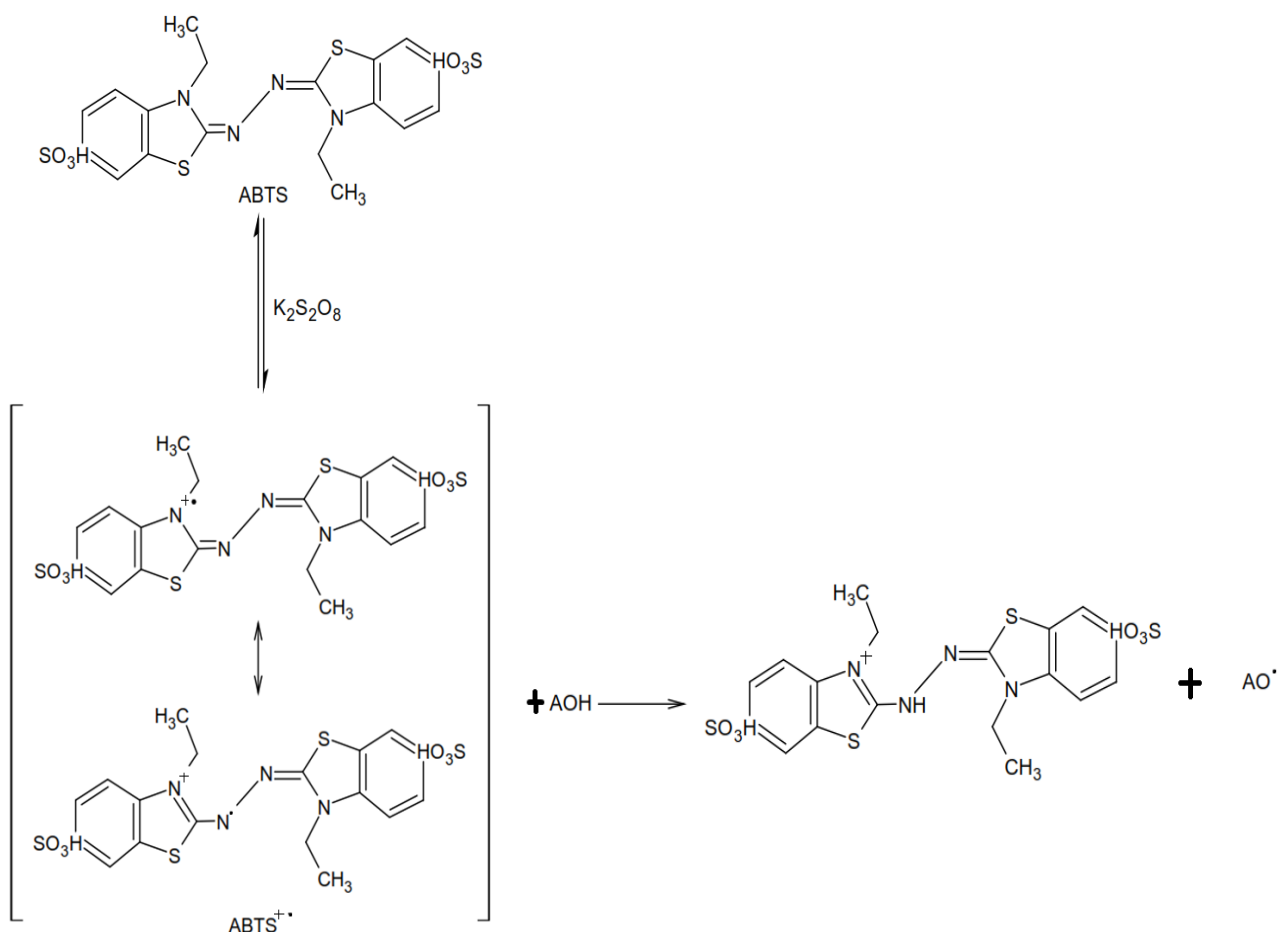


1.7.2. Ensayo ABTS

Mesa *et al*, (2009), menciona que este método se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS, debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones, los compuestos antioxidantes con respecto a su capacidad eliminan su absorbancia tanto en un grado, como en tiempo de duración, es por ello que el método se basa en la inhibición por el antioxidante de la absorbancia del radical catiónico ABTS (Samaniego, 2006). Según Guerra (2016), el proceso consiste en la formación de un compuesto cromóforo verde azulado generado por la radicalización del reactivo ABTS por la reacción con persulfato de

potasio ($K_2S_2O_8$), esto a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16 horas, su mecanismo de reacción se presenta en la figura 4, este radical presenta tres máximos de absorción en longitudes de onda de 645 nm, 734 nm y 815 nm, pero según indica Amaya *et al*, (2013) el pico a la longitud de onda 734 nm ha sido preferido debido a la menor interferencia de otros pigmentos de las plantas, donde la adición de los antioxidantes al radical pre-formado lo reduce a ABTS. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión $ABTS^{\cdot+}$, está determinado en función de la concentración y el tiempo; así como del valor correspondiente usando el Trolox como estándar, bajo las mismas condiciones (Tovar, 2013).

Figura 4. Oxidación de ABTS por parte de persulfato de potasio generando el radical ABTS y su reacción con un compuesto antiradical (AOH). (Adaptado de Guerra, 2016)



1.7.3. Contenido total de fenoles (Folin Ciocalteu)

Variedad de compuestos obtenidos a partir de del metabolismo secundario desempeñan roles con los que tienen la capacidad de otorgar colores a frutos y/o plantas, atraer insectos para polinización, generar defensa frente a patógenos actuando como repelentes naturales con el fin de proteger a la planta de depredadores, también proporcionan a estos sabores amargos, haciéndolas difíciles de ingerir (García *et al*, 2009).

Tal como menciona Paladino (2012), los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que participan de diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente, así mismo son de interés de estudio ya que a estos compuestos también se les atribuye respuesta frente a la actividad antioxidante, principalmente los ácidos fenólicos y flavonoides (Settharaksa *et al*, 2012).

La medida del contenido de fenoles totales se realiza empleando el método de Folin – Ciocalteu, el cual consiste en medir el cambio de color de amarillo a azul que acompaña la reacción de los compuestos fenólicos (Sánchez, 2015) con el reactivo de Folin que es un heteropolianión molibdofosfowolfrámico en el cual el Mo (VI) es reducido a Mo (V) con un electrón donado por un antioxidante. Se utiliza como reactivo una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La absorbancia del color azul desarrollado se mide a 750 nm (Shinella, 2014)

1.8.Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en el análisis de la composición química de la limonaria

1.8.1.Cromatografía de gases

La cromatografía gas-líquido que se conoce como GC (Gas Chromatography), en la cual los analitos deben estar en estado gaseoso, cambio que se produce por el calentamiento a que deben ser sometidos; la importancia de esta técnica se debe a que posee gran sensibilidad, rapidez y automaticidad (Doria, 2013). Indica Guerra (2016) que esta es una técnica de separación de mezclas muy complejas, en donde la muestra que se inyecta en la fase móvil (generalmente helio) pasa por la fase estacionaria que se encuentra fija en una columna, aquí una vez se ha separado, detectado y cuantificado los componentes, únicamente se obtienen los tiempos de retención de los picos cromatógrafos, el cual permite realizar la identificación química de los compuestos.

López (2008), indica que la fase móvil es un gas inerte, su separación se basa en las diferencias en los puntos de ebullición y la temperatura de la columna, a esta fase se denomina gas transportador, el cual permite el flujo de moléculas de la muestra de análisis por toda la columna; por otro lado, describe Olguín *et al*, (2004) que la fase estacionaria es la encargada de separar los componentes de la muestra. Esta puede ser un sólido o un líquido, dispuestos sobre un sólido que actúa como soporte (columna). El sólido de la fase estacionaria puede ser de aluminio, sílica gel, carbón o tierra de diatomeas; y el líquido de la fase estacionaria debe tener una baja viscosidad y una alta y diferencial solubilidad. Algunas de las propiedades que debería cumplir una fase estacionaria de acuerdo con MNCN, (2008) son:

- (1) Un rango de temperaturas de utilización lo más amplio posible ideal entre -60 y 400°C
- (2) Tener una presión de vapor lo más baja posible
- (3) Ser térmicamente estable
- (4) Ser químicamente inerte
- (5) Tener baja viscosidad en las condiciones de trabajo
- (6) Debe mojar bien el soporte, presentando además una adherencia suficiente como para que no sea arrastrada por la fase móvil.

Refiere Olguín *et al*, (2004) que la fase estacionaria que se desee elegir no solamente dependerá de la polaridad existente de los solutos, sino también de las características de la mezcla compleja que se desee separar, ya que el grado de separación de la mezcla depende de sus respectivos coeficientes de reparto en la fase estacionaria, cada mezcla particular debe tener, al menos teóricamente, una fase que efectúe la separación mejor que las demás. Describe Christian (2009) que debido al desafío que lleva seleccionar la fase estacionaria, se han creado métodos que buscan agrupar dichas fases teniendo como referencia sus propiedades de retención, como ejemplo está la polaridad, es por ello que hablamos de los índices de Kovats, los cuales a partir de los tiempos de retención permite la identificación de compuestos, debido a que compara este con una serie homologa de compuestos similares, es decir aquellos que presentan estructura similar pero varia la cantidad de carbonos presentes en esta.

En el sistema de separación se utiliza como estándar una serie de n-alcanos. A cada n-alcano se le asigna el valor del número de átomos de carbono multiplicado por 100 como índice de

retención (pentano 500, hexano 600, heptano 700, etc.) (Hübschmann, 2009) El índice I se define como sigue:

$$I = 100 \left[n_c + \frac{\log t'_{R(prob)} - \log t'_{R(n_s)}}{\log t'_{R(n_1)} - \log t'_{R(n_s)}} \right]$$

Ecuación 1

Donde n_c es la cantidad de átomos de carbono en el alcano de cadena más corta y n_l se refiere al alcano de cadena más larga; t'_R es el tiempo de retención corregido:

$$t'_R = t_R - t_M$$

Ecuación 2

Describe Christian (2009) que la identificación de un compuesto se lleva a cabo mediante la confrontación del índice de Kovats con otros índices registrados en variedad de columnas, donde el $\log t'_R$ (logaritmo del tiempo de retención), representa una función lineal con respecto número de átomos de carbono en una serie homóloga de compuestos, complementa Hübschmann (2009) sobre la debilidad de los sistemas de índice de retención la cual reside en el hecho de que no todos los analitos se ven afectados por variaciones en el sistema de medición en la misma medida. Para estos fines específicos se han desarrollado series homólogas de sustancias tan estrechamente relacionadas como sea posible. Si no se conoce el índice de retención de un compuesto, también puede estimarse a partir de consideraciones empíricas de los elementos y estructuras parciales presentes en la molécula.

1.8.2.Espectrometría de masas

Menciona Plascencia (2003) a la espectrometría de masas como una poderosa técnica microanalítica usada para identificar compuestos desconocidos, para cuantificar compuestos conocidos, y para elucidar la estructura y propiedades químicas de moléculas, describe Cocho (2007) que la mezcla heterogénea de análisis es sometida inicialmente a una fuente de ionización (rayo de electrones) en la cual los compuestos que forman parte del analito adquiriendo una carga negativa o positiva. Menciona Ayala *et al*, (2004) que los fragmentos positivos que se producen (cationes y cationes radicales) se aceleran en vacío a través de un campo magnético y son distribuidos en base a su relación carga/masa (m/z), dado que la mayor parte de los iones producidos en el espectrómetro de masas conllevan una carga positiva, el valor de la relación m/z es equivalente al peso molecular del fragmento. La ionización de la muestra es clave y puede llevarse a cabo de diferentes formas, según la naturaleza de la propia muestra y lo que se pretenda detectar en el análisis, también puede efectuarse en condiciones de alto vacío, por impacto electrónico, o a presión atmosférica (Cocho, 2007).

Describe Corral (2006) las cuatro fases básicas que se llevan a cabo durante la aplicación de la técnica de espectrometría de masas:

- (1) Ionización de la muestra
- (2) Aceleración de los iones por un campo eléctrico
- (3) Dispersión de los iones según su masa/carga
- (4) Detección de los iones y producción de la correspondiente señal eléctrica.

Describe Albarracín *et al*, (2003), que un espectro de masas, muestra en el eje de coordenadas horizontal la relación masa/carga (m/z) de aquellos iones formados al fraccionarse la molécula y en el eje de coordenadas vertical se evidencia la abundancia de cada uno de los iones formados; en el espectro se muestra picos delgados como líneas verticales (Corral, 2006), en donde el pico más intenso en el espectro se le denomina “pico base” y los demás picos se reportan en relación a la intensidad de este (Albarracín *et al*, 2003). También menciona Duarte (2006) que la espectrometría de masas, refleja ventajas como su rapidez y alta sensibilidad, identificación de compuestos cuando existen otros semejantes, análisis cualitativo y cuantitativo, dando como resultados información isotópica, sobre su estructura, muestra también energías como la cinética y la de enlace entre otras.

1.8.3.Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Menciona Albaladejo (1999) que la innovación tecnológica que ha supuesto el acoplamiento de la cromatografía de gases y espectrometría de masas, permite determinar el espectro de masas de un componente determinado, presente en un pico de un cromatograma de gases, determinando su estructura, e identificándolo con mayor certeza; Por lo tanto, describe Gutiérrez *et al*, (2002) que la unión de estas técnicas, GC (Gas Chromatography) y MS (Mass Spectrometry) forma una técnica conocida como (GC-MS) por la cual se logra la identificación de compuestos a partir de la separación de mezclas complejas; donde la muestra de análisis al ser introducida al cromatógrafo de gases es dividida en la columna cromatográfica con el fin de eluir cada componente del extracto de análisis, los cuales posteriormente pasan al espectrómetro de masas.

Los compuestos obtenidos de la muestra de análisis son registrados como picos cromatográficos, pero su identificación se da gracias al espectro de masas. Menciona Stashenko *et al*, (2010), que la unión GC-MS es bastante favorable, ya que los compuestos idóneos para realizar un análisis por cromatografía de gases, así como por espectrometría de masas con impacto de electrones, son moléculas con temperaturas de ebullición, pesos moleculares o polaridades bajos o medianos, presentes en mezclas en el rango de concentraciones (ppb – ppm) similar para ambas técnicas; además su análisis transcurre en el mismo estado de agregación (fase vapor).

Refiere Montoya (2010), que este es un método completamente adecuado para determinar que compuestos están presentes un extracto debido a que contiene compuestos volátiles y de bajo peso molecular (< 250 Dalton). La esencia se inyecta directamente en el cromatógrafo, sin ningún tratamiento previo. Esto elimina cualquier posibilidad de introducir modificaciones en la composición de la muestra o en la estructura de sus constituyentes debidas a pretratamiento, menciona Albarracín *et al*, (2003) que, en el cromatógrafo, los componentes de la muestra análisis son separados permitiendo su ingreso en el espectrómetro de masas, donde se registrar el correspondiente espectro para cada uno de los compuestos separados. Los constituyentes de los extractos son identificados por los diferentes patrones de fragmentación que se evidencia sus respectivos espectros de masas, así mismo refiere Albaladejo (1999), que esta técnica permite, dado el caso, la localización de los distintos compuestos por mediación de sus índices de retención, así como la determinación cuantitativa de los compuestos específicos por medio del cálculo de área de sus picos

2.Objetivos

2.1.Objetivo general

Evaluar la variación en el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante en extractos de limonaria (*Cymbopogon citratus*) tratados con radiación UV-B, en dos estados fenológicos y tiempos de adaptación cortos, con el fin de promover el uso de la radiación UV-B en plantas aromáticas como tecnología poscosecha.

2.2.Objetivos específicos

- Identificar la respuesta en el rendimiento de extracción de matrices tratadas con radiación UV-B, con el fin de validar su aplicación como técnica de poscosecha en plantas aromáticas.
- Aplicar el método de Folin-Ciocalteu, con el fin de identificar la presencia de compuestos fenólicos en los extractos de limonaria (*Cymbopogon citratus*) tratados con radiación UV-B.
- Aplicar los métodos DPPH y ABTS con el fin de identificar el efecto de la radiación UV-B en la actividad antioxidante de los extractos de limonaria (*Cymbopogon citratus*) en los estados fenológicos y tiempos de adaptación evaluados.
- Aplicar la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectroscopia de masas (CG-MS), para obtener la caracterización química de los extractos de limonaria (*Cymbopogon citratus*) que presentaron mayor contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante.

3. Metodología

3.1. Material vegetal

Los ensayos se llevaron a cabo utilizando hojas y tallos frescos de plantas de limonaria en dos estados fenológicos, punto de corte y 17 días después de punto de corte. Se empleó aproximadamente 1kg de hojas y tallos frescos para cada tiempo de adaptación (15 y 30 minutos) y para cada tratamiento (control y UV-B $0,05 \text{ Whm}^{-2}$).

3.2. Determinación de las dosis de radiación

Se llevó a cabo la aplicación de radiación UV-B, utilizando lámparas Philips TL 40W/12RS, garantizando una dosis media de $0,05 \text{ Wh m}^{-2}$ por medio de la medición constante empleando una sonda LP 471 UV-B adaptada a un radiómetro DELTHA OHM HD 2102.2 (Figura 5).

Figura 5. Cámara de radiación y Radiómetro DELTHA OHM HD 2102.2 con sonda LP 471 UV-B



3.3. Parámetros analizados

Los parámetros se eligieron de acuerdo con revisión bibliográfica relacionada con plantas aromáticas, debido a que en la revisión generada en esta investigación sobre la influencia de la radiación UV-B en la actividad antioxidante de la limonaria (*Cymbopogon citratus*) arroja la no evidencia de trabajos publicados sobre el dicho tema, a continuación, en la tabla 3 se presentan los parámetros analizados para la obtención de datos en el presente estudio:

Tabla 3. Parámetros analizados para la limonaria

Estado Fenológico	Dosis radiación (Wh.m ⁻²)	Tiempo de adaptación (minutos)	Identificación de extractos	matriz de extracción	Obtención de extracto	Actividad antioxidante		Fenoles
						DPPH	ABTS	
Punto de corte	0	0	Control (CA)	Fresco	4	3	3	3
	0,05	15	AA		4	3	3	3
		30	AB		4	3	3	3
17 días después de punto de corte	0	0	Control (CB)	Fresco	4	3	3	3
	0,05	15	BA		4	3	3	3
		30	BB		4	3	3	3

Las abreviaturas en la tabla 3. Corresponden a los extractos: (CA): Control, (AA): planta irradiada con 15 minutos de adaptación, (AB): planta irradiada con 30 minutos de adaptación par estado el fenológico punto de corte; y (CB): Control, (BA): planta irradiada con 15 minutos de adaptación, (BB): planta irradiada con 30 minutos de adaptación en estado fenológico 17 días después de punto de corte.

*Cada análisis se realizó por triplicado por cada método empleado.

En la tabla 3 se relaciona la metodología empleada durante la investigación, en la columna uno se reflejan los dos estados fenológicos utilizados punto de corte y 17 días después de punto de corte, para la columna dos se evidencian las dosis de radiación UV-B (0 y 0,05 Wh m⁻²), en la columna tres se relacionan los tiempos de adaptación (15 y 30 minutos), en la columna cuatro se relaciona la identidad de los extractos, en la columna cinco se evidencia la matriz de extracción

haciendo referencia al material vegetal fresco, en la columna 6 se relaciona el número de extracciones para cada estado fenológico, la columna 7 y 8 presenta los métodos utilizados para el análisis de la actividad antioxidante con el número de repeticiones para cada ensayo, por último en la columna 9 se relaciona el método de análisis en el contenido de fenoles totales con el número de repeticiones desarrollado.

3.3.1.Método de extracción

Se empleó el método de hidrodestilación con aparato tipo cleverger, el cual tiene como principio someter a calor una suspensión formada por material vegetal aromático y agua hasta su estado de ebullición, con el fin de que los vapores generados arrastren la esencia para luego ser condensados y colectados, el aparato tipo cleverger es el más recomendado para realizar esta destilación, ya que permite integrar todas las etapas del proceso de destilación, incluyendo la vaporización, la condensación y la decantación (Mérida, 2012).

El rendimiento de extracción, fue determinado aplicando la ecuación 3 (Perdomo *et al*, 2015)

$$\%Rendimiento = \frac{\text{peso en gramos del extracto}}{\text{peso en gramos del material vegetal}} * 100\% \quad \text{Ecuación 3}$$

$$\text{peso del extracto en gramos} = \text{peso del vial con extracto}(g) - \text{peso vial vacío}(g)$$

$$\text{Ecuación 4}$$

3.3.2. Contenido de Fenoles totales

El análisis del contenido de fenoles totales para los extractos análisis, se llevó a cabo empleando el método de Folin-Ciocalteu descrito por Chun *et al*, (2005), con algunas modificaciones tales como; 10 µL de extracto de limonaria se mezclaron con 20 µL de etanol al 96%, posterior se adicionaron 0,5 mL de agua destilada y 10 µL de reactivo Folin-Ciocalteu 1N, pasados cinco minutos se adicionó 1 mL de Carbonato de sodio al 5%. La reacción se dejó reposar durante 60 minutos, pasado este tiempo se midió la absorbancia utilizando un espectrofotómetro UV-VIS Rigol Ultra-3000 a 725 nm. La curva de calibración fue preparada con diferentes concentraciones de ácido gálico (0-200 µg.mL⁻¹). La aplicación del método se realizó por triplicado para tratamientos y controles. El contenido total de fenoles es expresado en mg ácido gálico/100 mL de extracto aplicando la ecuación 5 descrita por Martínez *et al*, (2015):

$$\frac{mg \text{ ácido gálico}}{100 mL \text{ extracto}} = CAG * \frac{V_1}{V_2} * 100$$

Ecuación 5

Donde;

CAG: concentración de ácido gálico en el extracto (mg/mL), valor obtenido al despejar la ecuación de recta en la curva de calibración.

V₁: Volumen en mL del disolvente etanol utilizado en la preparación de la muestra de análisis.

V₂: Volumen en mL del extracto utilizado en la preparación de la muestra de análisis.

3.3.3. Actividad antioxidante

3.3.3.1. Método DPPH

La actividad antioxidante de los extractos se determinó aplicando el método DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) utilizado por Vásquez *et al*, (2015), la solución del radical se preparó disolviendo 3.94 mg of DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) en 100 mL de etanol obteniéndose una concentración de 0,1mM. Para medir la actividad antioxidante, se tomaron 50 μ L de extracto mezclados con 950 μ L de etanol, y 2 mL de solución del radical DPPH y se aforo a volumen de 4 mL con etanol. La mezcla se dejó reaccionar por 30 minutos en la oscuridad. La absorbancia de las muestras fue tomada a 517 nm usando un espectrofotómetro UV-VIS Rigol Ultra-3000. Todas las mediciones se realizaron por triplicado. El blanco se preparó bajo el mismo procedimiento sustituyendo el extracto por etanol. Los resultados se expresaron en mg Trolox. mL^{-1} de extracto, según la ecuación 5 empleada por Martínez *et al*, (2015). La curva de calibración fue preparada en concentraciones que oscilan entre 0-0,028 mg respecto a una solución estándar de Trolox (0,35 mg. mL^{-1}) en etanol.

Su principio se fundamenta en la reducción del radical DPPH• gracias a los antioxidantes presentes en el extracto. Este radical se considera estable y presenta una tonalidad púrpura que se reduce gradualmente al ser adicionada una muestra con compuestos antioxidantes (Santacruz, 2011). La decoloración del DPPH se mide a una absorbancia de 517 nm hasta que se alcanza el equilibrio. Los valores de porcentaje de inhibición se calculan empleando la ecuación 6, utilizada por Vásquez *et al*, (2015), se aplicó el método a los tratamientos y controles por triplicado.

$$I = \left(\frac{A_b - A_s}{A_b} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 6}$$

Dónde:

A_s absorbancia de los extractos

A_b absorbancia del blanco

3.3.3.2.Método ABTS

La actividad antioxidante se determinó empleando el radical catiónico ABTS⁺ (ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) empleado por Alvis *et al*, (2012) con algunas modificaciones. Donde se mezclaron 15 mL de la solución diluida de radical ABTS 7mM y 15 mL de solución de persulfato de potasio 2,45mM en un tubo de ensayo, la mezcla se deja reaccionar a temperatura ambiente por 16 horas. Pasado el tiempo se mezclan 50 µL de extracto con 1 mL de solución ABTS dejándola reaccionar a temperatura ambiente y oscuridad por 10 minutos, pasado el tiempo se mide la absorbancia a 734 nm usando un espectrofotómetro UV-VIS Rigol Ultra-3000. El blanco se preparó bajo el mismo procedimiento sustituyendo el extracto por etanol. Se elaboró una curva de calibración empleando Trolox, (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-2-cromanocarboxílico) considerado análogo de la vitamina E, en concentraciones entre 0 y 0,2 mg.mL⁻¹. Las mediciones se realizaron por triplicado. La capacidad antioxidante se expresó en mg de Trolox.mL⁻¹ extracto, según la ecuación 5 empleada por Martínez *et al*, (2015).

Este ensayo fue reportado por primera vez por Miller y Rice-Evans, este ensayo ABTS se basa en la capacidad de captura que tiene el anión radical ABTS^{•+} [del ácido 2,2' -azinobis (3-

etilbenzotiazolina-6sulfónico) de vida larga. El ABTS es oxidado por los radicales peróxido u otros oxidantes a su forma de radical catión $\text{ABTS}^{\bullet+}$ el cual es de color intenso, y la capacidad antioxidante de los compuestos de prueba se mide como inhibición óptica complementaria a la absorbancia (disminución del color), al reaccionar directamente con el radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (Amaya *et al*, 2013).

La decoloración se mide espectrofotométricamente obteniendo valores de absorbancia a 734 nm, los resultados de porcentaje de inhibición fueron obtenidos aplicando la ecuación 6, empleada por Vásquez *et al*, (2015), este método fue aplicado a los tratamientos y sus respectivos controles por triplicado.

3.3.4. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

Para el análisis de los extractos se empleó un cromatógrafo Hitachi M-8000, con una columna HP-5 de Agilent de 0,32mm y una fase móvil de Helio al 99% de pureza. La temperatura del inyector se colocó a 200°C y el programa se inició a 40°C con una rampa de 8°C/min hasta alcanzar 240°C, el volumen de inyección fue de 2µL. el espectrómetro de masas acoplado fue un Hitachi M-80b con una energía de ionización de 70ev.

Las muestras de análisis se prepararon diluyendo cada extracto en éter grado HPLC (5mL), estas se pasaron a través de un filtro de celulosa previamente desengrasado. Las muestras posteriormente se almacenaron hasta su inyección en el equipo sin retirar el solvente. La presencia de éter no interfiere en los análisis ya que este es considerado por el equipo como solvente base.

3.4.Diseño experimental

El diseño experimental se llevó a cabo aplicando un diseño factorial 2^2 , (dos factores con dos niveles cada uno) presentado en la tabla 4. El respectivo análisis experimental se llevó a cabo mediante un análisis de varianza ANOVA sumado a una prueba de comparación múltiple denominada prueba de Tukey empleando el programa SAS versión 9.2.

Variables independientes:

- Estado fenológico de la planta
- Tiempos de adaptación de la planta a la radiación UV-B

Variables dependientes:

- Rendimiento de extracción
- Contenido de compuestos fenólicos
- Actividad antioxidante
- Cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas

Tabla 4. Características del diseño factorial 2^2 para la determinación de actividad antioxidante de limonaria (*Cymbopogon citratus*).

No. Del factor	Factores	Niveles del factor
1	Estado fenológico	Punto de corte
		20 días después de unto de corte
2	Adaptación a la radiación	15 minutos
		30 minutos

4.Resultados y Discusión

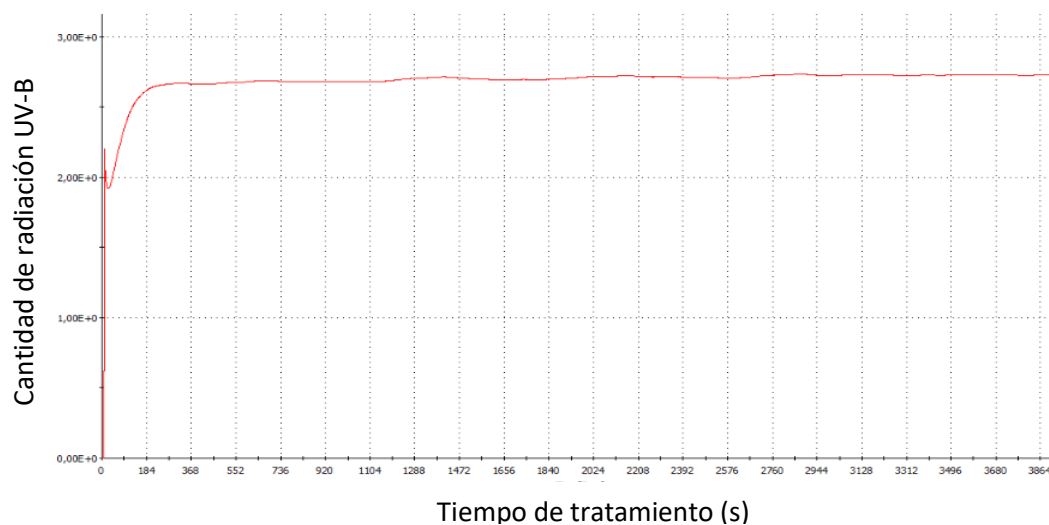
4.1.Dosis de radiación aplicada a la limonaria

Se llevó a cabo la medición de dosis de radiación a $0,05 \text{ Wh.m}^{-2}$, aplicando un tiempo de exposición aproximado de 65 minutos, los resultados se evidencian en la tabla 5 y figura 6.

Tabla 5. Dosis de radiación UV-B aplicada a la Limonaria.

Ensayos	1	2	3	4	5
Radiación acumulada aplicada (Wh.m^{-2})	10330,601	10556,441	8616,942	9640,607	9857,23
Dosis media	2,632	2,687	2,192	2,472	2,544
Radiación aplicada en 60 minutos (Wh.m^{-2})	0,044	0,045	0,037	0,041	0,042
Radiación aplicada por minuto (Wh.m^{-2})	0,0007	0,001	0,001	0,001	0,001
Radiación total aplicada en 65 minutos (Wh.m^{-2})	0,048	0,049	0,040	0,045	0,046
Desviación aproximada (Wh.m^{-2})	$\pm 0,002$	$\pm 0,001$	$\pm 0,010$	$\pm 0,005$	$\pm 0,004$

Figura 6. Curva de aplicación de radiación UVB generada por el programa DeltaLog9.



El eje de las ordenadas (Y) muestra la cantidad de UVB aplicada en W.m^{-2} , el eje de las abscisas (X) muestra el tiempo implementado durante el tratamiento medido en segundos. Los primeros segundos del tratamiento revelan el curso del calentamiento de las lámparas con la respectiva señal de encendido del temporizador, el cual se estimó en 184 segundos. A continuación, se refleja como la radiación oscila 2,5-3,0 W.m^{-2} manteniéndose constante hasta observarse el apagado de la luminaria en la cámara de radiación.

4.2.Efecto de estrés con UV-B en el rendimiento de extracción.

Los resultados de rendimiento proporcionan evidencia referente al comportamiento fisiológico de las plantas en respuesta a su exposición a estrés UV-B. Estos resultados reflejan variaciones entre los tratamientos y sus respectivos controles, evidenciándose de manera general que los mejores rendimientos fueron obtenidos para la limonaria expuesta a radiación con un tiempo de adaptación de 30 minutos en los dos estados fenológicos estudiados. En la tabla 6 se refleja que para la limonaria en estado fenológico punto de corte tanto para control, como irradiada en tiempos de adaptación 15 y 30 minutos se obtuvieron los mejores rendimientos, con porcentaje promedio de 0,2761% para el control, 0,2946% para limonaria irradiada con 15 minutos de adaptación y 0,3250% para limonaria irradiada con 30 minutos de adaptación; Reflejándose así incrementos en el rendimiento de extracción entre un 6,7-17,71% respecto a su control. Mientras que para los extractos de limonaria en estado fenológico 17 días después de punto de corte se obtuvieron rendimientos promedio de 0,2357% para el control, 0,2396% para limonaria irradiada con 15 minutos de adaptación y 0,2447% para limonaria irradiada con 30 minutos de adaptación; Reflejándose así incrementos en el rendimiento de extracción entre un 1,65-3,82% respecto a su control.

Tabla 6. Rendimiento de extracción para Limonaria en sus dos estados fenológicos.

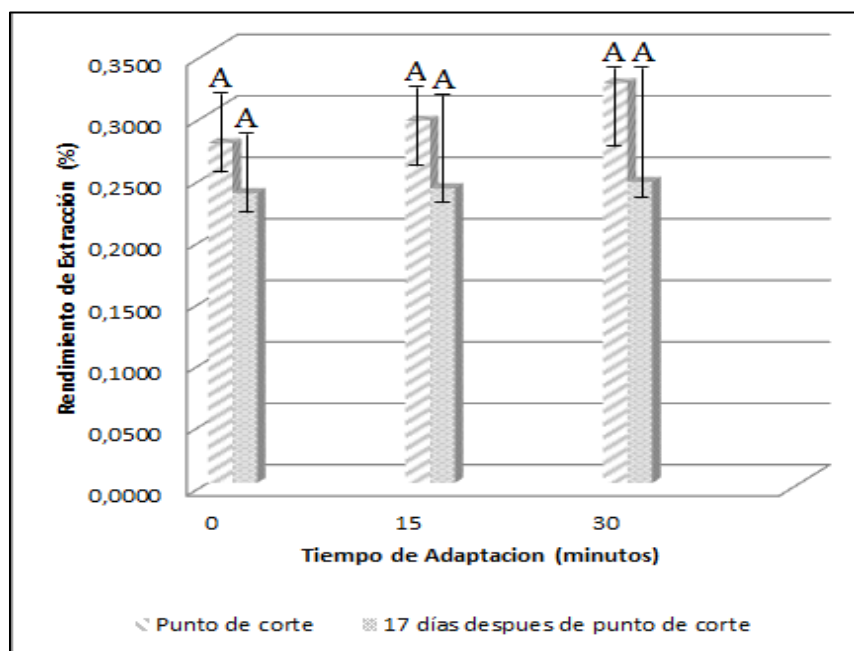
Estado Fenológico	Dosis radiación (Wh.m ⁻²)	Tiempo de adaptación (minutos)	Volumen extracto obtenido (mL)	Rendimiento (%)	Promedio
Punto de corte	0	0	0,7	0,2701	0,2761±0,05 (A)
			0,6	0,2308	
			0,6	0,2395	
			0,8	0,3639	
	0,05	15	0,75	0,2974	0,2946±0,03 (A)
			0,7	0,2829	
			0,7	0,2588	
			0,75	0,3394	
		30	0,8	0,3041	0,3250±0,02 (A)
			0,8	0,3072	
			0,9	0,3618	
			0,8	0,3267	
17 días después de Punto de corte	0	0	0,6	0,2208	0,2357±0,01 (A)
			0,6	0,2534	
			0,6	0,2409	
			0,6	0,2277	
	0,05	15	0,7	0,2711	0,2396±0,03 (A)
			0,8	0,2687	
			0,6	0,2068	
			0,6	0,2117	
		30	0,7	0,2915	0,2447±0,04 (A)
			0,65	0,2102	
			0,7	0,2051	
			0,7	0,2719	

Letras distintas denotan diferencia significativa según el test de Tukey ($p>0,5$).

Los rendimientos obtenidos (tabla 6) son inferiores a los reportados por Vásquez, (2015), que presentaron un rendimiento de 0,752% (hidrodestilación- clewenger) y 1,5% (hidrodestilación asistida por microondas), Mu'azu *et al*, (2016) 0,83% (destilación arrastre de vapor) y 0,55% (hidrodestilación), Lucena *et al* (2015) 0,49% (hidrodestilación- clewenger). Otro reporte realizado por parte d Rodríguez *et al*, (2012), indica que en plantas frescas de limonaria cultivadas en Santander-Colombia a 977msnm, el rendimiento del extracto obtenido por hidrodestilación con aparato tipo clewenger sin exposición a radiación UV-B complementaria fue de 0,46%, mientras que la limonaria del presente estudio fue cultivada en el municipio de Anolaima a una altitud de 165 msnm y se obtuvo un rendimiento de 0,3250% para estado

fenológico punto de corte y 0,2447% para estado fenológico 17 días después de punto de corte, esta diferencia puede deberse como menciona Carrasco (2009), a un incremento en altura sobre el nivel del mar (msnm), factor al que se le atribuye la capacidad de generar cambios tanto en el contenido como en la calidad del extracto en relación a los metabolitos secundarios presentes en las plantas, donde los extractos de plantas cosechados a mayor altura presentan tanto mayor cantidad y mejor calidad de los compuestos presentes en el extracto, complementando lo anterior reporta Geetha *et al*, (2014) que los factores ambientales como el clima, la altitud, las precipitaciones y otras condiciones pueden afectar el crecimiento de plantas que a su vez determinan la calidad de los ingredientes herbales presentes en una especie producida en el mismo país. Estas condiciones pueden producir variaciones importantes en los compuestos bioactivos de las plantas. La composición química del aceite esencial y extractos acuosos de *C. citratus* varía según el origen geográfico.

Figura 7. Rendimiento de extracción de la limonaria respecto al tiempo de adaptación a la dosis de radiación ($0,05\text{Whm}^{-2}$).



Letras distintas denotan diferencia significativa según el test de Tukey ($p>0,5$).

La figura 7, permite evidenciar como los extractos de limonaria no mostraron diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el test de Tukey ($p>0,5$), no obstante, se identifican variaciones entre tratamientos y controles, como se puede observar los tiempos de adaptación cortos de 15 y 30 minutos, permiten obtener mayor rendimiento y volumen de extracto, situación que se asocia con una mayor producción de metabolitos secundarios en comparación con los controles. Resultados que son acordes con los estudios presentados por Kumari *et al*, (2009), en los cuales las plantas de limonaria que fueron irradiadas con UV-B después de la emergencia de la hoja durante 3 h / día (10.00 a.m.-1.00 p.m.) hasta 80 días después del trasplante, el contenido de los aceites esenciales sobre la base de peso fresco (v / w) de las hojas fue 0,35% en control y 0,44% en hojas de plantas tratadas con UV-B, evidenciándose un aumento porcentual de 25,71% en el rendimiento del extracto respecto al control, esto indica claramente que las plantas con dosis moderada de UV-B ($+1,8 \text{ kJ m}^{-2}$ por encima de la ambiente) dieron como resultado un contenido más alto de aceites esenciales en comparación con plantas no tratadas. Adicionalmente en el estudio realizado por Vinutha *et al*, (2016), con extractos de *Cymbopogon Flexus*, en el cual, las plantas fueron tratadas con UV-B (1.8 kJ m^{-2} o $0,5 \text{ Whm}^{-2}$) antes de la cosecha durante un periodo de 10 días. La exposición a la fuente de radiación se realizaba diariamente a diferentes intervalos de tiempo (0,5 h, 1,5 h, 3,0 h), con un tiempo de adaptación aproximado de 24 horas, los rendimientos obtenidos estuvieron en un rango de 0,76-1,65%, donde se refleja un incremento porcentual entre 22,04-29,92% respecto al extracto control.

4.3.Efecto del estrés con UV-B en el contenido de fenoles totales.

Los resultados relacionados con el contenido de fenoles, reflejan variaciones entre los tratamientos y sus respectivos controles, siendo el extracto BA (12,48 mg de ácido gálico/100 mL extracto) aquel que presento mayor concentración de compuestos fenólicos en referencia a los extractos provenientes de material irradiado. Los extractos BA y BB presentaron un aumento porcentual 19,3 y 4,6% en relación a su extracto control.

Para el caso de los extractos en estado fenológico punto de corte se evidencia que el extracto AA presento un incremento porcentual de 4,87% en referencia al extracto AB. Sin embargo cabe resaltar que los extractos AA y AB presentaron una variación porcentual por debajo de -16,9 y -20,7% respectivamente, en referencia a su control como se presenta en la tabla 7.

Tabla 7. Contenido de fenoles totales en los extractos de limonaria (*Cymbopogon citratus*)

Estado Fenológico	Dosis radiación (Wh.m ⁻²)	Tiempo de adaptación (minutos)	Identificación de extractos	Ensayos			Promedio
				mg ácido gálico/100 mL extracto			
				1	2	3	
Punto de corte	0	0	Control (CA)	15,1	9,99	15,13	13,4099±2,42 (A)
	0,05	15	AA	12,59	8,2	12,64	11,1429±2,08 (A)
		30	AB	12,19	8,06	11,63	10,6254±1,83 (A)
17 días después de punto de corte	0	0	Control (CB)	11,72	7,94	11,73	10,4635±1,79 (A)
	0,05	15	BA	14,04	9,38	14,04	12,4884±2,20 (A)
		30	BB	12,32	8,18	12,34	10,9478±1,95 (A)

Letras distintas denotan diferencia significativa según el test de Tukey ($p>0,5$).

Las abreviaturas en la tabla 7. Corresponden a los extractos: (CA): Control, (AA): planta irradiada con 15 minutos de adaptación, (AB): planta irradiada con 30 minutos de adaptación par estado el fenológico punto de corte; y (CB): Control, (BA): planta irradiada con 15 minutos de adaptación, (BB): planta irradiada con 30 minutos de adaptación en estado fenológico 17 días después de punto de corte.

El contenido de fenoles totales obtenidos en el presente estudio para los extractos CA (13,4099 mg ácido gálico / 100 mL extracto) y CB (10,4635 mg ácido gálico / 100 mL extracto) son superiores a los valores reportados en el estudio de Srivastava *et al*, (2015) (0,231 mg ácido gálico / 100 μ L extracto), pero inferiores a los reportados en estudios de Vázquez *et al*, (2015) (hidrodestilación asistida por microondas; 149,2 mg ácido gálico/100mL de aceite), Mirghani *et al*, (2012) (en tallos 210,076 mg ácido gálico / 100 mL extracto y en hojas 184,692 mg de ácido gálico / mL extracto) y Alvis *et al*, (2011) (extracto Hidroalcohólicos; 40,44 mg ácido gálico/100 mL extracto). Las diferentes concentraciones de contenido fenólico, reportados por diferentes investigadores, se debe a que existen varios factores que pueden afectar el contenido total de compuestos fenólicos en la plantas: preparación (tiempo de secado, temperatura, entre otros) y las circunstancias de crecimiento de la planta, así como el método de extracción y la técnica de análisis (Vázquez *et al*, 2015), así mismo reporta Ávila (2009), que a pesar de ser un método de aplicación frecuente para determinar el contenido de compuestos fenólicos, este también puede reaccionar con compuestos no fenólicos, como por ejemplo el ácido ascórbico, azúcares y aminoácidos, obteniéndose así una sobreestimación en los resultados de contenido fenólico.

Para los dos estados fenológicos el extracto con mayor contenido de compuestos fenólicos fue el CA con 13,41 mg de ácido gálico/100mL extracto. Este resultado sugiere que el estrés generado por UV-B y el tiempo de adaptación para este caso no tuvo influencia positiva la producción de compuestos fenólicos de la planta, ya que no se presentó aumento en compuestos fenólicos, posiblemente por el poco tiempo de adaptación implementado. Esto puede ser complementado por lo reportado en un estudio realizado por Kumari *et al*, (2009), donde la exposición de las plantas de limonaria (*C. citratus*) a una dosis suplementaria leve de UV-B (1.8 kJ m^{-2} o $0,5 \text{ Whm}^{-2}$) por 80 días con un tiempo de adaptación de 24 horas, dio como resultado un

aumento en el número de células de aceite. La exposición UV-B también modificó la composición cualitativa y cuantitativa de los constituyentes del aceite. El componente importante, z-citral aumentó un 117,6% después de la exposición a UV-B; donde el citral también posee actividades antioxidantes que pueden estar asociadas con algunos de los efectos benéficos reportados en la salud humana. Los cambios que se manifiestan en varios constituyentes de aceite esencial pueden deberse a los efectos de UV-B sobre la activación / supresión de diversas enzimas implicadas en reacciones responsables de la síntesis de diversos terpenoides.

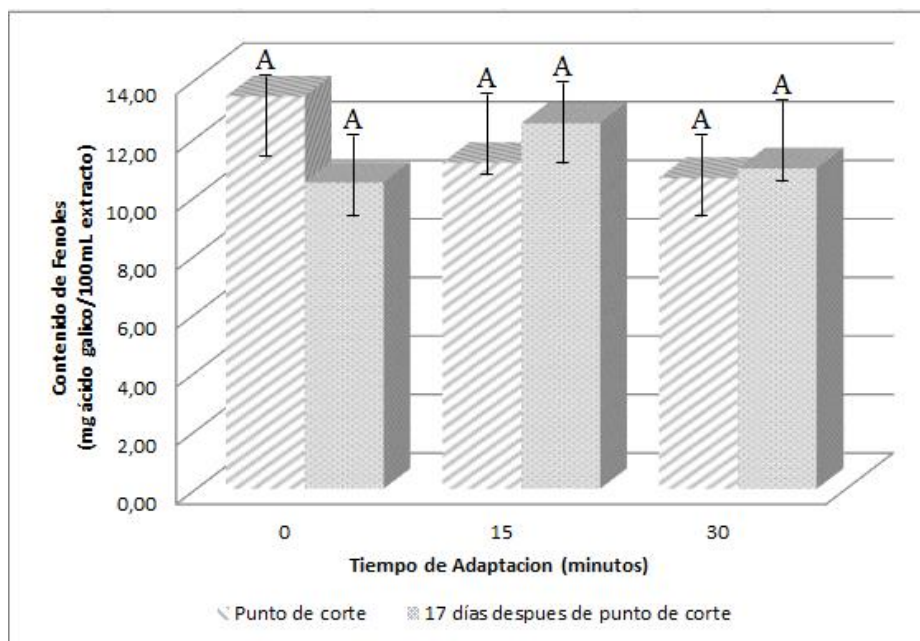
En cuanto a los resultados obtenidos con los extractos BA y BB, se presentó un contenido de fenoles mayor respecto a su control, lo anterior puede ser atribuido a que el reactivo Folin-Ciocalteu interactuó con el grupo OH del geraniol, siendo este el compuesto con mayor abundancia relativa luego de irradiar la planta identificado por la GC-MS (tabla 10), la situación anterior puede ser complementada con los reportes establecidos por García *et al*, (2010), donde se indica que este método puede generar una sobreestimación en los resultados gracias a que otros compuestos diferentes a los fenoles en el extracto pueden reaccionar con el reactivo Folin-Ciocalteu.

Algunos de los fitoconstituyentes reportados en el aceite esencial de la Limonaria contienen Citral α , Citral β , Nerol Geraniol, Citronellal, Terpinolene, Geranyl Acetato, Myrecene y Terpinol Metilheptenona. Dentro de los flavonoides y compuestos fenólicos el “Lemongrass” como se conoce en lengua inglesa, consta de luteolin y su 6-C y 7-O- Glucósidos, isoorientin 2'-O-rhamnoside y el aislamiento de los flavonoides quercetina, kaempferol y apigenina de las partes aéreas. Los compuestos fenólicos elimicina, catecol, el ácido clorogénico, el ácido caffénico y la hidroquinona también aislada de la planta (Shah *et al*, 2011)

El estudio realizado por Figueirinha *et al*, (2013) indica que el análisis de la infusión de *Cymbopogon citratus* evidencia presencia de ácidos fenólicos y sus derivados, así como de luteolina y apigenina, también contiene ácido cafeico y derivados del ácido p-cumárico. Esta composición química polifenólica puede contribuir, al menos en parte, a algunas propiedades terapéuticas tradicionales atribuidas a esta planta que están relacionadas con el oxígeno reactivo (ROS) y su capacidad de barrido, se encontró que las fracciones de tanino y flavonoides contenían los principales compuestos poli fenólicos responsables de la actividad antioxidante en la infusión de *C. citratus*.

Según lo expuesto por Villalobos (2015) el citral es un compuesto volátil, y muchos compuestos volátiles de plantas pueden exhibir propiedades antimicrobianas y actividad anti-herbívora, que sirven como defensas indirectas de las plantas. Otros volátiles de plantas tienen la capacidad para combinarse con especies reactivas del oxígeno, y sirve para proteger la planta contra daño oxidativo interno, o estrés oxidativo inducido externamente. Otros volátiles actúan como defensas repelentes o pueden llegar a ser tóxicos para patógenos o herbívoros. Este estudio muestra que el citral posee actividad antioxidante, y puede servir en el control de radicales libres nocivos o las especies de oxígeno reactivo que genera el metabolismo de la planta.

Figura 8. Contenido de fenoles totales de la limonaria respecto al tiempo de adaptación a la dosis de radiación ($0,05\text{Whm}^{-2}$).



Letras distintas denotan diferencia significativa según el test de Tukey ($p > 0,5$).

El contenido de fenoles totales medido con el método Folin-Ciocalteu para los extractos de estudio, no presentaron diferencias significativas entre sí según el test de Tukey ($p > 0,5$), el contenido de fenoles totales de los extractos provenientes de los diferentes estados fenológicos estudiados (figura 8) reflejan similitud en referencia a los valores de concentración obtenidos para los extractos control (CA: 13,4099 mg/100mL extracto y CB: 10,4635 mg/ 100mL extracto)

Aunque no se presentaron diferencias significativas en el presente estudio según el test de Tukey ($p > 0,5$), se evidencia un aumento porcentual de contenido fenólico de los extractos de material irradiado BA (19,3%) y BB (4,6%) respecto a su extracto control, estos resultados aunque son inferiores en comparación con lo reportado por Ghasemzadeh *et al*, (2016), coinciden con este estudio ya que en este se concluye que, para hojas de albahaca dulce irradiadas con UV-B en poscosecha a diferentes intensidades (2,30, 3,60 y 4,80 Wh.m⁻²) y por tiempos de exposición de (4, 6, 8 y 10 h), que fueron almacenadas durante 24 horas en oscuridad para completar la reacción de adaptación, la irradiación UV-B con intensidad de 3,60 Wh.m⁻² fue

la más eficaz mejorando la cantidad de metabolitos secundarios en hojas de albahaca dulce, donde se evidencio que el contenido total de fenoles aplicando método Folin-Ciocalteu aumento un 6,76 % (4 horas), 14,82 % (6 horas) y 25,31 % (8 horas), respecto al extracto control.

El extracto BA del presente estudio presento un aumento de 19.3 % en el contenido de fenoles respecto a su extracto control, siendo este el mejor resultado obtenido en el presente estudio, mientras que en Ramírez (2016), se reporta un aumento porcentual significativo de 37,84% para extractos de plantas de tomillo irradiadas con UV-B ($0,05 \text{ Wh. m}^{-2}$) en estado fenológico punto de corte y con tiempo de adaptación de 24 horas, sin dejar de lado que para todos los extractos en dicho estudio (en dos estados fenológicos y dos tiempos de adaptación) obtuvieron respuesta positiva frente a la radiación UB-V, mientras que en el presente estudio de limonaria para la planta en estado fenológico punto de corte no se evidencio aumento porcentual en el contenido fenólico respecto al extracto control, estas variaciones en los resultados pueden deberse al comportamiento bioquímico de cada planta y su respuesta frente al estrés.

Esta variación en el contenido de compuestos fenólicos en la planta puede verse afectada según Hasim *et al*, (2015) por características como : la preparación de la muestra (tiempo de secado, temperatura, etc.), estado de planta, el método de extracción, y la técnica de análisis, así mismo relaciona Torrenegra (2014), que la aplicación del método de hidrodestilación, puede ocasionar que el extracto obtenido pueda disolverse parcialmente en el agua utilizada en el proceso, como resultado el aceite pierde componentes oxigenados, de la misma manera algunos compuestos pueden experimentar hidrolisis (ejemplo: esteres) y otros como los compuestos monoterpenicos principalmente los compuestos conocidos como aldehídos ya que son sensibles a presentar polimerización, adicional los compuestos mayormente oxigenados tienen predisposición a presentar solubilidad en el agua.

Estudios como el de Figueirinha *et al*, (2013), donde se estudian infusiones de limonaria caracterizando sus compuestos por medio de HPLC; el estudio de Cheel *et al*, (2005), donde se analizan extractos en metanol, infusiones y decocciones de limonaria, caracterizando sus compuestos aplicando cromatografía de contra corriente, RMN y HPLC y Ferreira, (2015), donde estudia infusiones de limonaria las cuales son caracterizadas por RP-HPLC, estos estudios identificaron compuestos fenólicos tales como luteolina, Isoorientina, Isoorientina 2'-O-rhamnosida, ácido cafeico entre otros. Para extractos de planta de limonaria irradiada, estudios como los de Kumari *et al*, (2009) y Vinutha *et al*, (2016), aplicaron el método de hidrodestilación para obtención del extracto y GC-MS para la caracterización de este, pero se evidencia que ambos estudios no reportan la identificación de compuestos fenólicos, por otro lado estudios como los de Vásquez, (2015), Mirghani *et al*, (2012), obtuvieron extractos de limonaria aplicando el método de hidrodestilación, y el método de Folin Ciocalteu para determinación de contenido fenólico y GC-MS para la caracterización de los extractos, los cuales reportaron la concentración de los compuestos Neral, Geranial, Geraniol y betamirceno, y no se reporta la identificación de compuestos fenólicos pero si se atribuye la actividad antioxidante del extracto a la presencia de compuestos fenólicos. Esta revisión permite concluir que para obtener un mejor perfil de compuestos fenólicos este se logra aplicando el método Folin Ciocalteu en infusiones y/o extractos hidroalcoholicos, ya que por el método de hidrodestilación se reporta contenido fenólico, pero no se reporta la identificación de dichos compuestos, por ende se presume que el método de extracción aplicado influyo en el bajo contenido de compuestos fenólicos de los extractos de limonaria, sin desmeritar que la hidrodestilación es una técnica de extracción amigable con el ambiente y es más fácil su aplicación a nivel industrial en relación a otras técnicas de extracción (ejemplo extracción con fluidos supercríticos) ya que son técnicas

mucho más costosas. Resaltando así que estos resultados no afectan el objetivo base de la investigación.

4.4.Efecto de estrés con UV-B en la actividad antioxidante

Los resultados arrojados al realizar los métodos DPPH y ABTS (Tabla 8) permitieron conocer que para el estado fenológico punto de corte, los extractos AA y AB mostraron un incremento porcentual en referencia a su extracto control de 12,9 y 15,83% respectivamente aplicando el método DPPH, y 0,2 y 0,7% respectivamente aplicando el método ABTS, este resultado sugiere que el estrés generado por UV-B y el tiempo de adaptación influencia positivamente la actividad antioxidante de la planta para este estado fenológico.

Para el caso de los extractos en estado fenológico 17 días después de punto de corte se evidencia (tabla 8) que los extractos BA y BB reflejan una disminución porcentual respecto a su extracto control de -17,3 y -21,97% respectivamente aplicando el método DPPH y -2,1 y -0,1% respectivamente, aplicando el método ABTS. Este resultado sugiere que el estrés generado por UV-B y el tiempo de adaptación no presentan influencia positiva en la actividad antioxidante de la planta, posiblemente influenciado por su estado fenológico.

Tabla 8. Actividad antioxidante en los extractos de Limonaria (*Cymbopogon citratus*)

Estado Fenológico	Dosis radiación (Wh.m ⁻²)	Tiempo de adaptación (minutos)	Identificación de extractos	DPPH (%I)	ABTS (%I)
Punto de corte	0	0	Control (CA)	60,38 ±2,41 (A)	91,63 ±0,01(A)
	0,05	15	AA	68,17 ±0,94 (A)	91,78 ±0,01 (A)
		30	AB	69,94 ±3,89 (A)	92,23 ±0,08 (A)
17 días después de	0	0	Control (CB)	72,91 ±3,43 (A)	92,60 ±0,14 (A)
	0,05	15	BA	59,91 ±4,28 (A)	90,61 ±0,16 (A)

punto de corte	30	BB	56,89 \pm 2,89 (A)	92,50 \pm 0,3 (A)
----------------	----	----	----------------------	---------------------

Letras distintas denotan diferencia significativa según el test de Tukey ($p > 0,5$).

Las abreviaturas en la tabla 8, corresponden a los extractos: (CA): Control, (AA): planta irradiada con 15 minutos de adaptación, (AB): planta irradiada con 30 minutos de adaptación para estado el fenológico punto de corte; y (CB): Control, (BA): planta irradiada con 15 minutos de adaptación, (BB): planta irradiada con 30 minutos de adaptación en estado fenológico 17 días después de punto de corte.

Aplicando el método DPPH, los resultados obtenidos en el presente estudio (para estado fenológico punto de corte) concuerdan con el reporte realizado Selim (2011), donde se analizó la actividad antioxidante del aceite esencial de la hierba de limón egipcia (*Cymbopogon proximus Stapf*) obtenido por hidrodestilación usando clevenger, se obtuvieron porcentajes de inhibición que varían de 40,63%. Mirghani *et al.*, (2012) indico que para el caso de la limonaria, material vegetal fresco secado al aire (sin irradiar), aplicando método DPPH, se presentó una alta actividad antioxidante donde para el caso del tallo de limoncillo existió un 89% de inhibición a razón de 1:2 en concentración volumétrica de aceite esencial por volumen de disolvente; así mismo, el aceite esencial de las hojas mostró ligeramente menor inhibición (78,89%) en comparación con los tallos, porcentajes que son muy próximos a los resultados obtenidos en la presente investigación.

Adicional el estudio realizado por Vásquez *et al.*, (2015), donde se analizaron las propiedades antioxidantes del aceite esencial de las hojas frescas de *Cymbopogon citratus* obtenido por dos métodos de extracción, hidrodestilación usando aparato clevenger e hidrodestilación asistida por microondas, se reflejó que, para extractos de limonaria obtenidos por este último método, se obtuvo un porcentaje de inhibición de 55,57%, pero no se reflejan datos para hidrodestilación con clevenger.

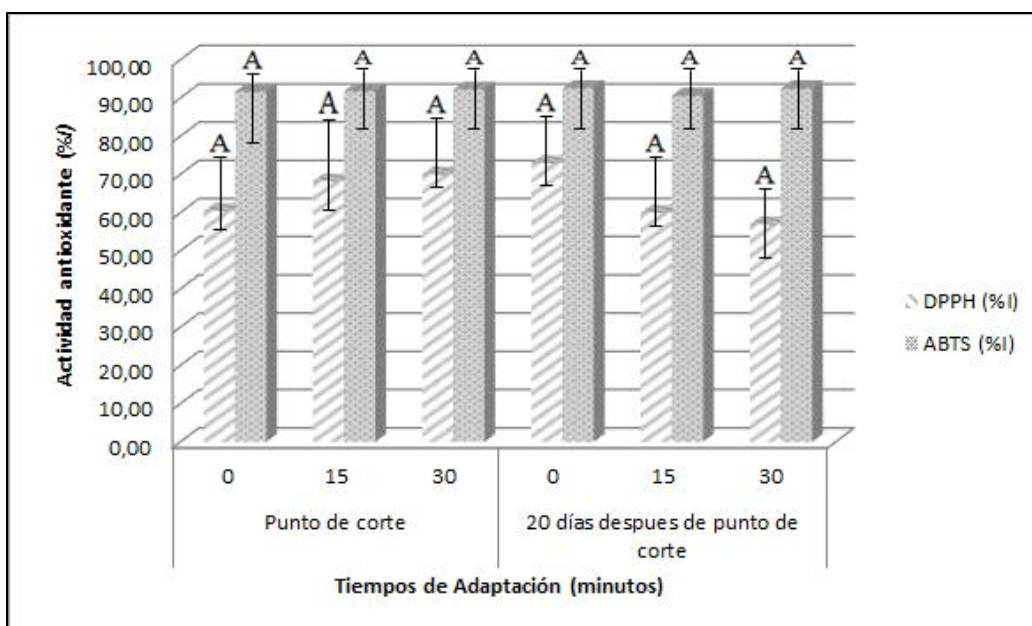
Respecto a la aplicación del método ABTS, literatura como la de Rao *et al.*, (2009), citado por Nambiar *et al.*, (2012) reporta que para el extracto de limonaria existe un porcentaje de

inhibición de 77% por método ABTS, presentado por un estudio donde se buscaba controlar los radicales libres, el efecto antifúngico y antigenotóxico de los extractos hidroalcohólicos de *Cymbopogon citratus*, revela que el extracto de limonaria a una concentración de $60\mu\text{L.mL}^{-1}$ resulta en una capacidad de barrido significativa, que para ABTS fue de 77%. Así mismo otro estudio realizado por Srivastava *et al*, (2015), se evidencia que los extractos de las hojas de Limonaria obtenidos por hidrodestilación, presentaron un porcentaje de inhibición de 67,48% para método ABTS, en estos métodos no se utilizó tratamiento con UV-B, y comparando con los resultados del presente estudio, se podría indicar que la dosis con UV-B influye positivamente la actividad antioxidante de la planta para los dos estados fenológicos, ya que se obtuvieron valores por encima de lo reportado en la literatura.

Tomando como referencia que para este estudio se obtuvieron valores de geraniol (tablas 9 y 10) por encima de lo reportado en la literatura, se hace importante resaltar una de sus actividades biológicas reportadas por Choi *et al*, (2010), citado por Chen *et al*, (2010), donde se investigaron 34 aceites esenciales de cítricos y sus componentes para actividades de barrido de radicales usando el ensayo de 1,1-difenil-2-picrilhidracil *in vitro* (DPPH) y comparando la actividad con un antioxidante estándar, Trolox. El geraniol (un cítrico volátil) mostró marcadas actividades de eliminación contra el radical DPPH (87,7%, 235,9 mg de Trolox equiv / ml). Así mismo Tiwari *et al*, (2009), informaron sobre el potencial antioxidante del geraniol usando macrófagos alveolares de rata presionados por el oxígeno hidropéroxido de tsigniertiario; encontró que el geraniol disminuyó significativamente la peroxidación lipídica, inhibió la liberación de NO (64,61%) y la generación de ROS en las células pretratadas en comparación con las células estresadas. Geraniol también mostró una protección significativa contra ROS. Estos resultados

indicaron el potencial farmacológico del geraniol en las enfermedades inflamatorias pulmonares donde el estrés oxidativo era un punto crítico de control.

Figura 9. Actividad antioxidante de la limonaria para métodos DPPH y ABTS.



Letras distintas denotan diferencia significativa según el test de Tukey ($p > 0,5$).

Los resultados de actividad antioxidante (Figura 9) reflejaron que no existían diferencias significativas para los métodos de actividad antioxidante empleados, prueba Tukey ($p > 0,05$). Sin embargo, analizando el comportamiento del %I aplicando los métodos ABTS y DPPH se evidencia una correlación entre los resultados obtenidos para cada método, ya que estos reflejan un aumento porcentual en la actividad antioxidante de los extractos de plantas irradiadas con respecto al control, pero también estos reflejan que para todos los extractos, los resultados en ABTS son mayores que en la técnica con DPPH, esto podría deberse según Vuarant (2010), que el DPPH es un radical libre que se obtiene directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS fue generado tras una reacción química durante 16 horas, así mismo refiere Tovar (2013), que para estos dos métodos existen diferencias tanto en la cinética como las condiciones

de reacción, ya que el radical DPPH es estable gracias a su habilidad de disolución en metanol, por otro lado, el radical ABTS se obtiene al reaccionar el ABTS con persulfato de potasio (oxidante), haciendo menos estable y más transitorio.

Así mismo como menciona Palomino *et al*, (2009), las variaciones en los resultados entre estos dos métodos se dan teniendo en cuenta que el $\text{ABTS}^{\bullet+}$ es menos selectivo en relación con el DPPH, ya que este último no reacciona con los flavonoides carentes de grupos hidroxilo, ni con ácidos aromáticos que contengan un solo grupo hidroxilo independientemente de su potencial antioxidante real, mientras que la baja selectividad del $\text{ABTS}^{\bullet+}$, crea la posibilidad de hacerlo reaccionar con cualquier compuesto aromático hidroxilado; reporta Londoño (2009) donde el $\text{ABTS}^{\bullet+}$ es soluble tanto en medio acuoso como orgánico y permite la evaluación de antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos, es por ello que se presume que los compuestos presentes en el extracto pueden ser altamente hidrofílicos, siendo estos más sensibles a la técnica del ABTS (Granados *et al*, 2014).

Otra razón por la cual los valores en ABTS son más altos que en DPPH, reporta Montañez *et al*, (2017) está basada en la longitud de onda a la cual se realizan las lecturas de absorbancia de las muestras de análisis, ya que para el método ABTS los valores se obtuvieron a una longitud de onda de 734 nm, pero para el método DPPH los resultados se obtuvieron a una longitud de 517 nm, esto gracias a que en la región del visible se presentan interferencias en la medición de algunos compuestos coloreados (carotenoides y antocianinas) que puedan existir en los extractos analizados a 517nm; por ultimo reporta Tovar (2013), que esta variación podría basarse en la reacción reversible característica del radical DPPH al interactuar con compuestos fenólicos (ejemplo: eugenol y sus derivados), haciendo posible obtener lecturas bajas en actividad antioxidante.

En la revisión actual de literatura sobre la influencia de la de radiación UV-B en la actividad antioxidante de la limonaria (*Cymbopogon citratus*) arroja la no existencia de investigaciones publicadas sobre el mismo, pero se evidencian trabajos sobre otras plantas aromáticas como el de Ramírez, (2016) donde se llevó a cabo un estudio sobre el efecto de la aplicación de radiación UV-B ($0,05 \text{ Wh.m}^{-2}$) a plantas de tomillo frescas en poscosecha, en dos estados fenológicos (punto de corte y plena floración) y dos tiempos de adaptación (24 y 48 horas); aplicando método DPPH, donde el estudio arroja la dosis de UV-B en los dos estados fenológicos y los dos tiempos de adaptación, influye positivamente el aumento de la actividad antioxidante de la planta con respecto al control. El extracto de plantas irradiadas en estado fenológico punto de corte y 24 horas de adaptación fue el que presento un mayor porcentaje de inhibición 62,34 %, valor muy próximo a los obtenidos en este estudio, donde para el extracto de punto de corte y 30 minutos de adaptación presento un aumento en relación con el control, permitiendo analizar que este estado fenológico favorece la actividad antioxidante de la planta, que posiblemente con un tiempo de adaptación mayor mejoraría mucho más su porcentaje de inhibición.

Los resultados obtenidos en el presente estudio para limonaria irradiada, extractos AA (12,9%) y AB (15,83) aplicando método DPPH; son similares pero son superiores a los reportados por Ramírez *et al*, (2013), en su estudio en plantas de menta y romero frescas donde evidencio que luego de aplicar radiación UV-B ($0,05 \text{ Wh.m}^{-2}$) en poscosecha por 67 minutos, los extractos de menta y romero de plantas irradiadas presentaron un aumento en su porcentaje de inhibición de 1,14% y 7,26% respectivamente, en referencia a sus extractos control, y los resultados del presente estudio son inferiores en comparación por los reportados en el estudio realizado por Huyskens *et al*, (2007) para el fruto de la grosella negra la cual fue irradiada con UV-B (8.2 Ws.m^{-2}) durante poscosecha, para tres tiempos de exposición diferentes (60, 90 y 120

minutos) y dos tiempos de adaptación (20 minutos y 2 horas) se evidencio que aumentando los períodos de exposición UV-B la síntesis de flavonoides se activó revelando un drástico aumento del 76% después de 120 minutos de exposición. La actividad antioxidante en frutos de grosella negra cosechada fue significativamente inducida (21%) por radiación UV-B; Sin embargo, sólo después de 120 minutos de exposición a UV-B con un tiempo de adaptación de 22 h, evidenciándose de esta forma una tendencia en la cual, la actividad antioxidante se aceleró con el aumento de los tiempos de adaptación, revelando un tiempo de reacción bioquímica más largo con respecto al estrés mediado por UV.

Los diferentes valores de actividad antioxidante, reportados por diferentes investigadores, pueden ser atribuidos a factores como clima, la composición del suelo y la estación, así como, la edad y la etapa de crecimiento de la planta (Vásquez *et al*, 2015).

La aplicabilidad de los métodos ABTS y DPPH para identificar la actividad antioxidante fueron los indicados para extractos de limonaria, gracias a su excelente estabilidad, simple aplicación y rápido análisis, siendo además los métodos más aplicados en literaturas de referencia, así mismo según reporta Londoño (2009) permiten la evaluación de antioxidantes hidrofílicos (método ABTS) y lipofílicos (método DPPH) presentes en el extracto de análisis; ya que métodos como por ejemplo el blanqueamiento del beta caroteno presenta baja reproducibilidad, sus reactivos presentan complejidad e inestabilidad, presenta interferencia con el pH, temperatura y solventes de redisolución del extracto (León, 2007).

4.5.Efecto de estrés con UV-B en el análisis de la composición química de los extractos de limonaria aplicando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

Extractos de análisis

- Extracto de limonaria en punto de corte con 30 minutos de adaptación y respectivo control.
- Extracto de limonaria 17 días después de punto de corte con 15 minutos de adaptación y respectivo control.

Estos extractos se seleccionaron debido a que presentaron los mejores resultados en los análisis de actividad antioxidante (DPPH y ABTS) y compuestos fenólicos (Folin-Ciocalteu), respectivamente.

La identificación de los compuestos presentes en los extractos de limonaria se realizó mediante la comparación entre el cromatograma arrojado por el equipo (Anexo E) y la biblioteca del software Xcalibur, donde se mide la distancia entre los picos del cromatograma de cada compuesto y se compara con lo registrado en la biblioteca.

Las figuras 10 y 11, representan los picos correspondientes a los compuestos identificados durante el estudio, 23 compuestos para cada extracto, así mismo se evidencia la abundancia relativa de los mismos, que para el caso de los picos más altos en la figura 1 y 2 son: (1) Neral (26,8-37,4); (2) Geraniol (26,1-33,13); (3) β -mirceno (13,97-14,5); (4) Geranial (6,58), extractos de material irradiado y control respectivamente. Complementando las gráficas, se puede evidenciar en la tabla 9, que el extracto irradiado en punto de corte con 30 minutos de

adaptación, contiene 21 compuestos, al igual que su extracto control, con la diferencia que el alcanfor, farnesal e isovaleraldehído solo están presentes en el extracto irradiado; y el careofileno, alfa-camforeno y 2-Undecanona solo están presentes en el extracto control.

Así mismo, tomando como referencia la tabla 9, y las figura 10 y 11, se puede evidenciar que la influencia de radiación en la planta género un incremento porcentual en el contenido de trece compuestos del extracto con respecto al control, donde cinco (color verde) de ellos presentaron un incremento por encima del 1% y los ocho restantes (color amarillo) un incremento por debajo del 1%.

Tabla 9. Reporte de caracterización por GC-MS de extracto de limonaria en estado fenológico punto de corte irradiado a $0,05 \text{ Wh.m}^{-2}$ y tiempo de adaptación 30 minutos (AB)

Ítem	Compuesto	Extracto Irradiado (área %)	Control (área %)	Δ (área %)
1	Neral	26,8	37,4	-10,6
2	Geraniol	26,1	33,13	-7,03
3	β -mirceno	13,97	14,5	-0,73
4	Geranial	6,58	6,58	----
5	Mentona	3,9	0,11	3,79
6	β -Elemene	3,3	0,35	2,95
7	Dipenteno/Limoneno	2,6	1,78	0,82
8	Citronelal	2,3	0,14	2,16
9	Alcanfor	2,3	----	2,3
10	Farnesal	1,92	----	1,92
11	Fenchona	1,7	0,42	1,28
12	1,8 Cineol/Eucaliptol	1,47	1,47	----
13	2-Tridecanona	1,15	0,18	0,97
14	Pineno	1,02	0,4	0,62
15	Ácido nerolico	0,97	0,17	0,8

16	Isovaleraldehído	0,97	----	0,97
17	Canfeno	0,83	0,15	0,68
18	Linalool	0,7	1,16	-0,46
19	α -ocimeno	0,48	0,48	----
20	Alfa-camforeno	----	0,37	
21	Cariofileno	----	0,35	
22	Oxido de Cariofileno	0,38	0,25	0,13
23	2-Undecanona	----	0,26	
24	Eucarvona	0,37	0,22	0,15

Los colores representan incrementos porcentuales en el contenido de compuestos del extracto irradiado respecto a su extracto control, color verde incremento superior al 1%; color amarillo incremento inferior a 1%.

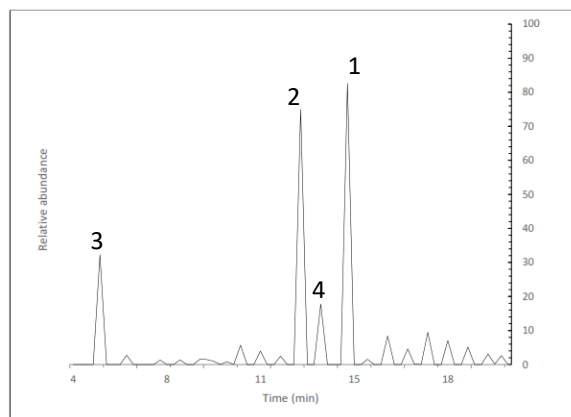


Figura 10. Cromatograma obtenido por GC-MS. Extracto de limonaria punto de corte irradiado a $0,05 \text{ Wh.m}^{-2}$ con 30 minutos de adaptación. Picos: 1, Neral; 2, Geraniol; 3, β -mirceno; 4, Geranial.

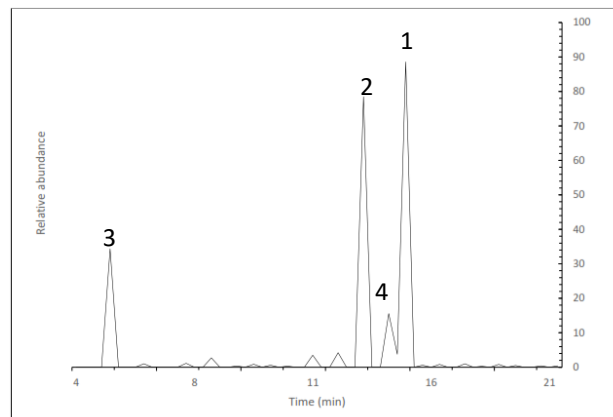


Figura 11. Cromatograma obtenido por GC-MS. Extracto control de limonaria punto de corte. Picos: 1, Neral; 2, Geraniol; 3, β -mirceno; 4, Geranial.

Para el presente estudio las figuras 10 y 11, permiten indicar el contenido de citral disminuyo al someter la planta a radiación, resultados difieren con lo reportado por Kumari *et al*, (2009), quienes, para hojas frescas de limonaria irradiadas 3 h/día por 80 días antes de su cosecha con un tiempo de adaptación de 24 horas, donde el análisis por GC-MS de los extractos, indicaron que el estrés por radiación generó aumento del 117,56% en el quimiotipo de la panta es decir

citral respecto al control, pero se generó una disminución del 28,96% de geraniol con UV-B respecto al control, este último concuerda con los resultados para geraniol obtenidos en el presente estudio. Otro estudio reportado por Vinutha *et al*, (2016), donde se realizaron análisis por GC-MS a los extractos de *Cymbopogon Flexus*, donde antes de su cosecha la planta fue tratada con UV-B (1.8 kJ m^{-2} o $0,5 \text{ Wh.m}^{-2}$) por 10 días, expuesta diariamente a diferentes intervalos de tiempo (0,5 h, 1,5 h, 3,0 h), con un tiempo de adaptación aproximado de 24 horas, los resultados arrojaron un aumento porcentual significativo del 30, 48% en el contenido de citral para plantas irradiadas por 1,5 h.

Esto permite suponer que tanto los tiempos de exposición de la planta a UV-B como los tiempos de adaptación a la misma fueron muy cortos y por ello con generaron cambios significativos en la composición misma del extracto.

Respecto a los extractos de limonaria en estado fenológico 17 días después de punto de corte, las figuras 12 y 13, muestran los picos correspondientes a los compuestos identificados durante el estudio, 18 compuestos para extracto BA y 20 compuestos para su extracto control, así mismo se evidencia la abundancia relativa de los mimos, que para el caso de los picos más altos figura 12 son los compuestos: 1, Geraniol; 2, Neral; 3, β -mirceno; 4, Geranial. para el extracto de planta en estado fenológico 17 días después de punto de corte irradiada con tiempo de adaptación de 15 minutos, así como los Picos figura 13 son los compuestos: 1, Neral; 2, Geraniol; 3, β -mirceno; 4, Geranial para el extracto control.

La tabla 10 muestra la identificación de 18 compuestos en el extracto irradiado de limonaria, un compuesto menos respecto a su control, donde el cariofileno y ácido nerolico solo están presentes en el extracto control. Se puede evidenciar que los compuestos mayormente presentes

en los extractos son: (1) neral (29,52-35,8), (2) geraniol (42,9-31,72), (3) β -mirceno (9,7-17,2) y (4) geranial (6,58), extractos irradiados y control respectivamente. Así mismo, la tabla 10 permite identificar que la influencia de radiación en la planta generó un incremento porcentual en el contenido de siete compuestos del extracto con respecto al control, donde uno (color verde) de ellos presentaron un incremento por encima del 1% y los seis restantes (color amarillo) un incremento por debajo del 1%. Cabe resaltar que el geraniol obtuvo el mayor aumento con respecto a su control el cual alcanzó el 11,18%.

Tabla 10. Reporte de caracterización por GC-MS de extracto de limonaria en estado fenológico 17 días después de punto de corte irradiado con 0,05 Wh.m⁻² y tiempo de adaptación 15 minutos (BA)

Ítem	Compuesto	Extracto Irradiado (área %)	Control (área %)	Δ (área %)
1	Geraniol	42,9	31,72	11,18
2	Neral	29,52	35,8	-6,28
3	β -mirceno	9,7	17,2	-7,5
4	Geranial	6,58	6,58	-----
5	Dipenteno/Limoneno	1,92	1,78	0,14
6	1,8 Cineol/Eucaliptol	1,47	1,47	----
7	Citronelal	0,8	0,14	0,66
8	Eucarvona	0,76	0,22	0,54
9	Canfeno	0,62	0,17	0,45
10	Pineno	0,6	0,6	----
11	2-Undecanona	0,52	0,26	0,26
12	Linalool	0,5	1,49	-0,99
13	Fenchona	0,5	0,5	----
14	α -ocimeno	0,48	0,48	----
15	2-Tridecanona	0,42	0,18	0,24

16	Alfa-camforeno	0,37	0,37	----
17	B-Elemene	0,35	0,35	----
18	Oxido de Cariofileno	0,32	0,32	----
19	Cariofileno	----	0,35	-0,35
20	Ácido nerolico	----	0,06	-----

Los colores representan incrementos porcentuales en el contenido de compuestos del extracto irradiado respecto a su extracto control, color verde incremento superior al 1%; color amarillo incremento inferior a 1%.

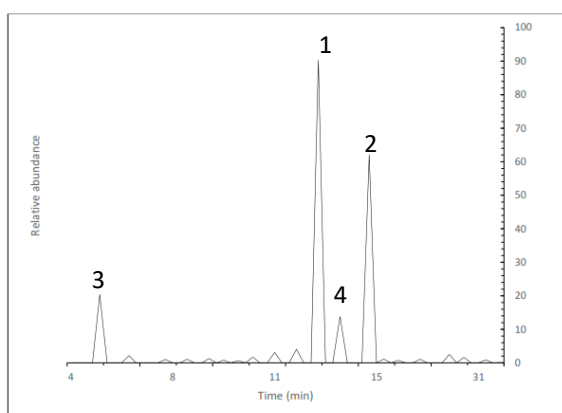


Figura 12. Cromatograma obtenido por GC-MS. Extracto de limonaria 17 días después de punto de corte irradiado a 0,05 Wh.m⁻² con 15 minutos de adaptación. Picos: 1, Geraniol; 2, Neral; 3, β-mirceno; 4, Geranial.

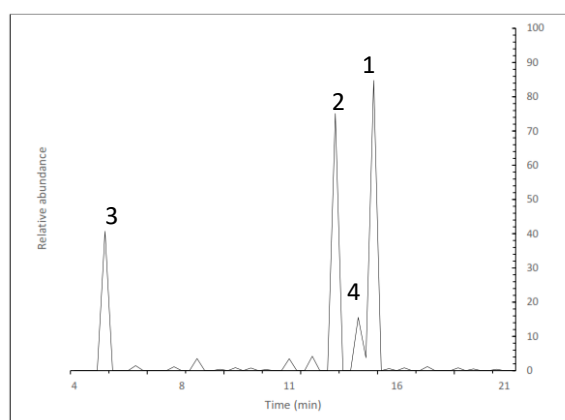


Figura 13. Cromatograma obtenido por GC-MS. Extracto control de limonaria 17 días después de punto de corte. Picos: 1, Neral; 2, Geraniol; 3, β-mirceno; 4, Geranial

Las gráficas 12 y 13 de los resultados del análisis por GC-MS del presente estudio permite evidenciar un mayor contenido de geraniol y menor contenido de geranial (componente del citral) en comparación con lo reportado en la literatura, por ello se hace importante resaltar lo indicado por Tajidin *et al*, (2012), donde se reporta que el momento de la cosecha en las plantas es uno de los factores que influyen en la composición química, la calidad y cantidad del aceite esencial de esta. Así mismo el aumento de citral en la limonaria podría verse afectada por la aplicación de fertilizantes, así mismo Miyazaki (1965), citado por Tajidin *et al*, (2012), informa que la deficiencia de nitrógeno afectó los aumentos en el contenido citral de la limonaria,

postulando que se debía principalmente al aumento en la edad de la hoja causada por la deficiencia de nitrógeno en el momento de la cosecha. Tajidin *et al*, (2012), reporta también que estudios sobre *Cymbopogon Flexuosus* indicaron que la enzima, geraniol deshidrogenasa, implicada en la transformación geraniol-citral, fue más activa en hojas inmaduras (Singh *et al*., 1989); El nivel de citral disminuyó en las hojas maduras de *Cymbopogon Flexuosus* debido al catabolismo donde del citral se convirtió en constituyentes de aceite no identificados u otros (Singh *et al*, 1989).

Estímulos ambientales pueden redirigir la ruta de biosíntesis cambiando la composición química, producción y actividad biológica de los aceites esenciales en las plantas, así mismo y según reporta Soto *et al*, (2002) el porcentaje de citral en la planta puede variar según el mes de plantación de esta, donde para los meses de plantación de mayo a agosto son los que presentan mayor contenido de citral. También reporta Flores *et al*, (2016), que la temperatura de crecimiento de la planta tienen relación a la cantidad de citral producido por la misma, es decir a mayor temperatura mayor cantidad de citral, así mismo se destaca la unión que realiza el geranial con el nitrógeno, donde cualquier abono que se aporta al suelo ayuda a la asimilación de nitrógeno y esto a su vez ayuda al aumento de biomasa, por consiguiente, aumenta la calidad y cantidad de aceite esencial en especial la concentración de geranial. Es por ello que factores ambientales (humedad relativa, temperatura, altitud), factores edafológicos (humedad, textura, materia orgánica, pH, conductividad eléctrica), concentración de quimiotipos y rendimiento de los aceites esenciales están estrechamente relacionados.

Los resultados reflejados en las tablas 11 y 12, permiten indicar que los extractos AB, presenta mayor cantidad de compuestos (21) identificados por GC-MS con respecto al extracto BA (18 compuestos), así como un aumento en la composición cuantitativa de los extractos de

limonaria irradiados. Para el extracto AB existen 13 compuestos con respecto al control, que reflejan un incremento porcentual en su contenido, mientras que para el extracto BA existen solo 7 compuestos con respecto al control, que reflejaron un incremento porcentual en su contenido, indicando que la planta al excederse en el tiempo adecuado de corte, genera la perdida de algunos compuestos.

Según lo reportado por Blanco *et al*, (2009), en los análisis del extracto de hojas frescas de limonaria aplicando hidrodestilación se indicó que el compuesto mayormente presente en el extracto fue el monoterpeno citral, una mezcla de los estereoisómeros, geranial (40,8 %) y Neral (36,3%), y beta - mirceno (13,2%).

Como también un reporte realizado por Mirghani *et al*, (2012), para extractos de limonaria obtenidos por hidrodestilación usando aparato tipo cleverger, revela que un total de 68 compuestos se caracterizaron en el extracto de tallo de limoncillo mientras que el para el extracto de hojas de limonaria se identificaron 72 compuestos. El análisis por GCMS reveló: geranial (32,10% y 29,64%), Neral (22,36% y 21,73%), geraniol (5,40% y 7,75%), limoneno (5,71% y 5,92%) y β -mirceno (2,20% y 2,28%), fueron los principales constituyentes de los tallos y hojas de aceite esencial de limonaria respectivamente, que comprendían el 67,77% y el 67,33% del aceite total. Los valores reportados por los autores anteriormente mencionados permiten evidenciar que los porcentajes para citral son superiores a los obtenidos en el presente estudio, mientras que para β -mirceno y geraniol son inferiores, esto para los extractos en sus dos estados fenológicos y sus respectivos controles.

Como se evidencia, el componente predominante en el extracto de *C. citratus*, es el citral (33,38% y 43,98%) para la planta AB, planta irradiada y control respectivamente) y (36,1% y

42,38% para la planta BA, planta irradiada y control respectivamente), estos resultados coinciden pero son menores respecto a los reportados por Rodríguez *et al*, (2012) 79,18%, Vázquez *et al*, (2015) 51,63% (destilación asistida por microondas), Masamba *et al*, (2003) 82%, Pinto *et al*, (2015) 89,57%; pero por encima de lo obtenido por Vázquez *et al*, (2015) 35,32% (destilación por arrastre de vapor).

Estudios como los de Hasim *et al*, (2015), Cheel *et al*, (2005) (extracción por reflujo en etanol), Shah *et al*, (2011), Ekpenyong *et al*, (2014), Figueirinha *et al*, (2013) (extractos en metanol y etanol), coinciden en que el extracto de *C. citratus* contiene flavonoides y compuestos fenólicos, que consisten en luteolina, Isoorientina 2'-O-rhamnosida, quercetina, Kaempferol, apiginina, ácido clorogénico y cafeico calves en su actividad antioxidante.

El estudio realizado por Kumari *et al*, (2009), reporta (Figura 14) que para extractos de hojas frescas de limonaria obtenidos por hidrodestilación usando aparato tipo clewenger, se hizo posible identificar por GC-MS once compuestos, en el extracto de hojas de plantas de limonaria control y 15 compuestos en el extracto de limonaria tratado con UV-B (1.8 kJ.m^{-2} o $0,5 \text{ Wh.m}^{-2}$), valores inferiores a los obtenidos en el presente estudio, donde se obtuvieron un total de 18 compuestos para extracto BA, uno por debajo respecto a su control y 21 compuestos para extracto AB, al igual que su extracto control; pero se reflejan 12 compuestos volátiles diferentes en relación a los del presente estudio.

Con respecto al β -mirceno Kumari *et al*, (2009), reporta que es el tercer compuesto contenido en el extracto, con un porcentaje relativo de 10,34% para control y 10,84% para extracto de planta irradiada, valores inferiores a los reportados en el presente estudio 13,97% y 14,5% (para la planta AB, planta irradiada y control respectivamente); pero superiores respecto a los extractos

de la planta BA, 9,7 % y 17,2 % planta irradiada y control respectivamente. Este estudio concuerda con los resultados obtenidos por Kumari *et al*, (2009), respecto a que la exposición de las plantas de limonaria (*C. citratus*) a una dosis suplementaria de UV-B dio como resultado un aumento en la producción de extracto, así como obtener una modificación en la composición cuantitativa de las muestras, que para el caso de los extractos AB de los 21 compuestos identificados, 13 de estos con respecto al control, reflejan un incremento porcentual en su contenido (tabla 9) y para los extractos BA de los 18 compuestos identificados, siete de estos con respecto al control, reflejan un incremento porcentual en su contenido (tabla 10).

Figura 14. Cambios comparativos en la composición química de los aceites volátiles obtenidos a partir de muestras de hojas de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf tratado con UV-B (adaptado de Kumari *et al*, 2009)

Compuesto	Cambio en el % área después del tratamiento con UV-B
6-Methyl-5-heptene-2-one	14,74 ↑
Beta-Myrceno	4,8 ↑
Cis-Ocimene	7,1 ↓
1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl	n.d.
Trans Ocimene	9,5 ↑
Linalyl formate	d.
Beta-Bisabolene	d.
Pulegol	d.
Bicyclo hept-2-ene-2-methanol,6,6-dimethyl	d.
Trans-d-Dehydrocarveol	n.d.
10,12-adeadiynoic acid	n.d.
1H-3 ^a ,7 Methanoloazulene, octahydro-1,4,9,9-tetrament	d.
Nerol	8,0 ↑
2,6,Dimethyl-1,3,5,7-octatetraene	n.d.
Geraniol formate	28,96 ↑
a-Citral	117,56 ↑

↑, representa aumento; ↓, disminución; n.d., no detectado; d., detectado después de tratamiento con UV-B

Según lo reportado por Vinutha *et al*, (2016), donde se realizaron estudios para *Cymbopogon Flexus*, antes de su cosecha la planta fue tratada con UV-B (1.8 kJ m^{-2} o $0,5 \text{ Wh.m}^{-2}$) por 10 días,

expuesta diariamente a diferentes intervalos de tiempo (0,5 h, 1,5 h, 3,0 h), con un tiempo de adaptación aproximado de 24 horas. Para las plantas control fueron expuestas a luz solar directa. El análisis de los extractos se realizó por GC-MS; este estudio reveló la importancia del estrés con UV-B donde se observa un aumento considerable en el rendimiento del extracto, así como el contenido de citral en relación a otros tipos de estrés (Ácido giberélico (AC) y nitrato de zinc); el porcentaje en contenido de citral varía de 64,98; 81, 80; 84,79 y 68,34, para extracto control, irradiado 0,5 h, 1,5 h y 3 h respectivamente. Donde para tiempos superiores a 3h de exposición el contenido de citral disminuye. Dentro de los compuestos identificados no se reporta contenido de geraniol.

Como lo menciona Zhaohui *et al*, (2015), los efectos de la radiación en las plantas dependen de muchos factores, como la longitud de onda específica, la dosis de irradiación, el tiempo y la temperatura, por ello se presumen que la variación en el contenido del extracto de limonaria del presente estudio en relación con lo reportado en la literatura pudo verse afectado por el momento de la incidencia de radiación UV-B a la planta, ya que en los estudios anteriores la dosis de UV-B fue aplicada antes de su cosecha, caso contrario a lo realizado en el presente estudio (poscosecha). Mención Pérez *et al*, (2009), citado por Fisher *et al*, (2012) que dosis moderadas de UV-B inducen en los frutos una respuesta defensiva que origina cambios favorables en el metabolismo secundario, generando mayor producción de compuestos bioactivos como por ejemplo los antioxidantes, esto lo concluyó luego de su investigación donde logró evidenciar un aumento en la concentración de fenoles totales en tomates al aplicar dosis de radiación UV-B para tres casos de estudio: 1. Precosecha ($0,075 \text{ Wh.m}^{-2}$); 2. Poscosecha ($0,225 \text{ Wh.m}^{-2}$) y 3. Doble dosis, Antes ($0,03 \text{ Wh.m}^{-2}$) y después de cosecha ($0,225 \text{ Wh.m}^{-2}$).

Estudios como los anteriormente reportados permiten evidenciar la radiación UV-B como un importante factor abiótico en la vida de las plantas, pero adicional a ello muestra que dosis moderadas de UV-B, pueden comportarse como elicitores físicos-externos capaces de promover en la planta una resistencia frente al estímulo externo al que fue sometida (Ramírez *et al*, 2014), adicional los tiempos de adaptación más largos son de vital importancia para obtener aumentos considerables en el rendimiento del extracto y su composición; los tiempos de adaptación deben ser considerables ya que la planta debe generar una resistencia al estrés a la cual fue sometida, esto con el fin de resistir, evitar o escapar de aquellos impactos negativos que este pueda generarle manteniendo un estado “ideal” (Basurto *et al*, 2008), menciona Giacomelli *et al*, (2008) que cuando las plantas perciben este cambio en su estado ideal activan una respuesta de adaptación que involucra redes moleculares frente a la percepción del estrés, transducción de señales y regulación de la expresión de genes efectores, complementa Montolui, (2010) que esta respuesta al estrés inicia con lo que se conoce como fase de alarma, donde se activa una “restitución” con la ayuda de procesos de reparación tales como la síntesis de nuevas sustancias protectoras.

Los cambios fisiológicos y bioquímicos que ocurren en la ontogenia de las plantas regulan, de forma programada, la expresión así como la actividad de las enzimas implicadas en las vías del metabolismo secundario, este programa genético puede estar influenciado por factores exógenos, factores que alteran el estado fisiológico, que inducen cambios en la bioquímica y / o son señales que activan un conjunto de respuestas que culminan en la biosíntesis de los metabolitos secundarios (López *et al*, 2013). Es por ello que, factores locales, climáticos, estacionarios y condiciones experimentales, influyen en la composición de aceites esenciales de plantas, menciona Patel y Mehta (2006) citado por Nambiar *et al*, (2012), que se evaluaron los

compuestos con propiedades antioxidantes en la limonaria y encontraron que la limonaria seca contiene más fenoles y flavonoides, con respecto a uno fresco. Por lo tanto, pudieron inferir que la limonaria seca tiene mayor potencial antioxidante que la limonaria fresca.

Los cambios altitudinales del nivel del mar son un factor importante que influye en los ecosistemas terrestres. Por lo tanto, un cambio significativo en el nivel de altitud puede ocasionar cambios correspondientes en temperatura, velocidad relativa del viento húmedo, agua disponible, y tasa de radiación. Como resultado, los cambios en las condiciones ambientales alterarán muchas reacciones ecofisiológicas en los cuerpos de las plantas. Por ello, se presume que la altitud del cultivo de limonaria en el presente estudio pudo estar relacionada con la variación en la composición química del extracto, ya que la planta fue cultivada en el municipio de Anolaima a una altitud de 165msnm, mientras que reportes como los de Kumari *et al*, (2009), Cheel *et al*, (2005), Blanco *et al*, (2009), Vinutha *et al*, (2016), y Figueirinha *et al*, (2013) utilizaron plantas de limonaria cosechadas en altitudes de 86, 102, 804, 920, y 1000 respectivamente y estudios como el de Sanli *et al*, (2016), reporta que para extractos del fruto de *Kundmannia anatolica* recogidos a diferentes altitudes (400, 820, 1002 y 1560 m) de la región de los Lagos Turquía, se encontró que la altitud afectó la biosíntesis de terpenos y los monoterpenos oxigenados en general y fueron mayores a baja altitud, mientras que los constituyentes sesquiterpénicos fueron mayores a altas altitudes.

Joy *et al*, (2006) reporta que el rendimiento del aceite de plantas de *C. citratus* y *C. flexuosus* fluctúa mucho con la estación, la condición del material vegetal, el contenido de humedad y la edad de siembra, estas plantas prosperan en condiciones soleadas, cálidas y húmedas de los trópicos, se cultiva entre los 0 y 2500 msnm, y en Colombia es cultivada de 0 a 1900 msnm (Álvarez *et al*, 2014). Un estudio realizado por Thekkan *et al*, (2016), evaluó el contenido de

citral en los extractos de limonaria sembrados en diferentes zonas con condiciones climáticas diferentes (altitudes entre 48 y 1524 msnm y pH de suelo diferentes), concluye que el entorno un entorno con mayor temperatura y baja precipitación favorece más el rendimiento del extracto, así mismo las zonas de Kulipatti (altitud 700msnm) y Kurumalai (altitud 740 msnm) son los más favorables para obtener mayor contenido de citral. Así mismo se explica que si más alcalino es el suelo, mayor es el contenido de citral en el extracto, siempre y cuando factores como temperatura, humedad relativa, precipitaciones y altitud sean favorables, cabe resaltar que según lo anuncia Qadry (2009), citado por Thekkan *et al*, (2016) en su estudio se concluye que un pH alcalino en el suelo desencadena la síntesis de más citral para el extracto de limonaria como mecanismo de defensa para resistir el estrés alcalino.

5. Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

En cuanto al rendimiento de extracción, de manera general se evidencia un aumento porcentual en los resultados para los extractos de limonaria en sus dos estados fenológicos y los dos tiempos de adaptación, pero se resalta el mayor valor obtenido en la investigación el cual se produjo para el extracto de limonaria irradiada con 30 minutos de adaptación en estado fenológico punto de corte con un rendimiento 0,3250%, reflejándose así un incremento del 17,71% respecto a su control.

El extracto en estado fenológico punto de corte de limonaria irradiada con un tiempo de adaptación de 30 minutos reflejo mejor actividad antioxidante, evidenciándose que el método DPPH se obtuvo un incremento del 15,83% y un aumento del 0,7% aplicando el método ABTS respecto a los valores obtenidos en los extractos control.

Respecto al contenido de fenoles totales, se evidencia que el estado fenológico 17 días después de punto de corte para los dos tiempos de adaptación empleados (15 y 30 minutos) presentó un aumento porcentual de 19,3 y 4,6% en relación a su extracto control. El resultado obtenido fue superior al valor reportado por el control, respecto al contenido de fenoles, este comportamiento identificado, puede ser atribuido a que el reactivo Folin-Ciocalteu interactuó con el grupo OH del geraniol, siendo este el compuesto con mayor abundancia relativa luego de irradiar la planta.

En cuanto a la caracterización química del extracto por GC-MS, se logró evidenciar que la planta genera una respuesta rápida al estímulo UV-B, donde se aprecian un aumento porcentual respecto al extracto control en el contenido de 13 de los 21 compuestos identificados

en el extracto de planta irradiada en estado fenológico punto de corte con tiempo de adaptación de 30 minutos, sin dejar de lado el aumento porcentual de 7 de los 18 compuestos identificados para el extracto de planta irradiada en estado fenológico 17 días después de punto de corte con tiempo de adaptación de 15 minutos.

Aunque existió una respuesta positiva de la planta respecto al estrés inducido con radiación UV-B, los resultados obtenidos fueron inferiores a lo reportado en la literatura, esto pudo presentarse a causa de los tiempos de adaptación cortos que se llevaron a cabo durante el estudio, ya que posiblemente no le permitieron a la planta ajustar su metabolismo a esta nueva condición a la que fue sometida.

Se logra evidenciar que la radiación UV-B genera un efecto positivo como elicitor físico en la limonaria durante la poscosecha, identificado a través del aumento en el rendimiento de extracción y en la actividad antioxidante.

5.2.Recomendaciones

Es necesario realizar nuevos estudios que permitan identificar la posible existencia de quimiotipos para la limonaria, así como la influencia de la radiación UV-B en la actividad antioxidante de los extractos provenientes de esta planta.

Se sugiere evaluar otras técnicas de extracción para la limonaria como por ejemplo destilación por arrastre de vapor y/o hidrodestilación asistida por microondas, que permita obtener un mayor rendimiento de extracción, así como reducir la pérdida de compuestos volátiles.

Se sugiere evaluar otras técnicas para la medición de la actividad antioxidante como por ejemplo el método FRAP, con el fin de evidenciar el comportamiento antioxidante del extracto.

Se sugiere realizar nuevos estudios con tiempos de adaptación más prolongados y mayores dosis de radiación aplicada, con el fin de identificar si existe una respuesta mayor en la producción de metabolitos secundarios de la planta.

6. Literatura de consulta

Agriculture, forestry and Fisheries. (2012). Lemongrass production. Republic of South África.

Recuperado de <http://www.nda.agric.za/docs/Brochures/ProGuiLemonGrass.pdf>

Alarcón, R. J. (2011). Plantas aromáticas y medicinales. Enfermedades de importancia y sus usos terapéuticos. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Bogotá Colombia.

Albaladejo, M. Q. (1999). El aceite esencial de limón producido en España. Contribución a su evaluación por organismos internacionales (Tesis de pregrado). Universidad de Murcia, España.

Albarracín, G. C., Gallo, S. G. (2003). Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *Piper Aduncum* (Cordoncillo) procedente de la zona cafetera (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Colombia, Manizales Colombia.

Almanza, P. J. (2004). Radiación solar UV-B y estrés en las plantas. Fundación Universitaria Juan de Castellanos, Tunja Colombia.

Álvarez, L., Salazar, M. (2014). Caracterización morfológica de las Royas (Pucciniales) que afectan el limoncillo (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) en Colombia. *Bioagro*, 26(3), 171-176.

Alvis, A., Martínez, W., Arrazola, G. (2012). Obtención de Extractos Hidro-Alcohólicos de Limoncillo (*Cymbopogon citratus*) como Antioxidante Natural. *Información Tecnológica*, 23(2), 3-10.

Amaya, L. M., Portillo, C. E. (2013). Determinación de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio chaparrastique por el método de espectrofotometría ultravioleta-visible (Tesis de pregrado). Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador.

Arango, M. C. (2006). Plantas medicinales. Botánica de interés médico. Recuperado de https://books.google.com.co/books?id=fefaqvwHHoYC&pg=PA206&lpg=PA206&dq=origen+y+botanica+de+la+limonaria&source=bl&ots=MvpcZTDGrO&sig=ixepv_aU3IRAzGDx44AVpKpda2U&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjLl6m364vUAhVKLyYKHfj1A8gQ6AEIXTAJ#v=onepage&q=origen%20y%20botanica%20de%20la%20limonaria&f=false

Asaolu, M., Oyeyemi, O., Olanlokun, J. (2009). Chemical compositions, phytochemical constituents and *in vitro* biological activity of various extracts of *Cymbopogon citratus*. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(12), 1920-1922. Recuperado de <http://scialert.net/qredirect.php?doi=pjn.2009.1920.1922&linkid=pdf>

Avalos, G. A., Pérez, U. E. (2009). Metabolismo secundario en las plantas. *Reduca*, 2(3), 119-145.

Ayala, C., De Regil, R. (2004). Secuenciación de proteínas por espectrometría de masas (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca.

Ballare, C. L. (1996). Los clorofluorocarbonos y el ozono estratosférico un problema global. Efectos de la radiación ultravioleta sobre las plantas. *Revista de Divulgación Científica y Tecnología de la Asociación Ciencia Hoy*, 6(36).

Basurto, M., Núñez, A., Pérez, R., Hernández, O. A. (2008). Fisiología del estrés ambiental en las plantas. *Synthesis*, 48. Recuperado de

[http://www.uach.mx/extension_y_difusion/synthesis/2009/04/27/Fisiologia %20del estres ambiental en plantas.pdf](http://www.uach.mx/extension_y_difusion/synthesis/2009/04/27/Fisiologia_%20del_estres_ambiental_en_plantas.pdf)

Bernal, L. A. (2016). Efecto de la radiación UV-B sobre plantas de *Solanum tuberosum* L. (papa) infectadas con *Candidatus liberibacter* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca México.

Blanco, M.M., Costa, C.A., Freire, A. O., Santos, J. G., Costa, M. (2009). Neurobehavioral effect of essential oil of *Cymbopogon citratus* in mice. *Phytomedicine*, 16(2-3), 265-270.

Brown, B. A., Jenkins, G. I. (2008). UV-B Signaling Pathways with different fluence-rate response profiles are distinguished in mature Arabidopsis leaf tissue by requirement for UVR8, HY5, and HYH. *Plant Physiol*, 146(2), 576-588. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2245850/>

Carrasco, L. (2009). Efectos de la radiación ultravioleta-B en plantas. *Indesia*, 27(3), 59-76.

Cartaya, R. I. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Revista Cultivos Tropicales*, 22(2), 5-14.

Carvajal, M. S. (2005). Determinación de pigmentos foliares mediante técnica HPLC en *Laurelia sempervirens* tratada con suplemento de radiación UV-B y su efecto en el crecimiento (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile, Valdivia Chile.

Castellanos, M. A. (2014). Determinación de los compuestos volátiles en *Pentacalia vaccinioides*, su estudio antioxidante y antimicrobiano (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá Colombia.

Cerpa, M. G. (2007). Hidrodestilación de aceites esenciales: Modelado y caracterización (Tesis doctoral). Universidad de Valladolid, España.

Cheel, J., Theoduloz, C., Rodríguez, J., Schemeda, G. (2005). Free Radical Scavengers and Antioxidants from Lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2511-2517.

Chen, W., Viljoen, A. M. (2010). Geraniol, A review of a commercially important fragrance material. *South African Journal of Botany*, 76(4), 643-651.

Chun, S. S., Vatter, D. A., Lin, Y. T., Shetty, K. (2005). Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*, 40(2), 809-816.

Christian, G. D. (2009). *Química analítica*. México. Mc Graw Hill.

Cocho, J. Á. (2007). Desarrollo de un método por espectrometría de masas en Tándem para la detección de acilcarnitinas y la detección neonatal de alteraciones del metabolismo de ácidos orgánicos y ácidos grasos (Tesis doctoral). Universidad Santiago de Compostela, Galicia, España.

Contreras, V. H. (2010). Implementación a nivel laboratorio de una unidad de extracción de volátiles por radiación de microondas (Reporte de residencia profesional). Instituto Tecnológico de Durango, Victoria de Durango, Durango, México.

Corral, P. A. (2006). Fundamentos y funciones de la espectrometría de masas. Universidad de Valencia, España.

Cruz, C. I., González, A. R., Riley, C. A. (2012). Biosíntesis de alcaloides bencilisoquinolínicos. *Universitas Scientiarum*, 17(2), 189-202.

Doria, M. G. (2013). Cromatografía. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, Medellín Colombia.

Duarte, G. Q. (2006). Espectrometría de masas. Universidad Autónoma de México. Recuperado de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/4.1InstrumentacionEspectrometriadeMasas_2462.pdf

Ekpenyong, C. E., Akpan, E. E. Nyebuk, E. D. (2014). Phytochemical Constituents, Therapeutic Applications and Toxicological Profile of *Cymbopogon citratus* Stapf (DC) Leaf Extract. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(1), 133-141.

Fernandez, L. E. (2005). Fotoquímica del *Agave salmiana* (Tesis pregrado). Universidad de las Américas, Puebla México.

Figueirinha, A., Paranhos, A., Pérez, A., Santos, C., Batista, M. (2013). *Cymbopogon citratus* leaves: Characterization of flavonoids by HPLC–PDA–ESI/MS/MS and an approach to their potential as a source of bioactive polyphenols. *Food Chemistry*, 110(3), 718-728.

Fisher, G., Pérez, C. P. (2012). Efecto de la radiación solar en la calidad de los productos hortícolas. *Memorias Congreso Internacional de Hortalizas en el Trópico: La olericultura colombiana, Nuevos Retos para Enfrentar los Tratados de Libre Comercio*. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/256575856_Efecto_de_la_radiacion_solar_en_la_calidad_de_los_productos_hortícolas

Flores, M. F., Patiño, B. G. (2016). Valoración de la composición química de los aceites esenciales de hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) y jengibre (*Zingiber officinale*) en función de las condiciones ambientales y tipos del suelo de la zona de cultivo en las provincias de esmeraldas, Manabí, Santo Domingo, Pichincha, Imbabura, Carchi, Sucumbios y Napo (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Quito Ecuador.

Ferreira, F. G. (2015). *Cymbopogon citratus* and its polyphenols as potential phytotherapeutic products: an in vivo approach (Tesis doctoral). University of Coimbra, Weston, CT, USA.

Fundación Chemonics Colombia. (2003). *Manual de Fito protección y análisis de plaguicidas*. Recuperado de <http://www.cich.org/publicaciones/1/Fundacion-Chenobics-2003-Manual-cultivos-plantas-medicinales-y-aromaticas.pdf>

García, J. R., De la Rosa, L. A., Herrera, D. B., González, A. G., López, J. A, González, G. A., Ruiz, C. S., Álvarez, P. E. (2010). Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en la Ciudad Juárez, México. *Tecnociencia*, 5(2), 67-75.

Geetha, T. S., Getetha, N. (2014). Phytochemical Screening, Quantitative Analysis of Primary and Secondary Metabolites of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. leaves from Kodaikanal hills, Tamilnadu. *International Journal of PharmTech Research*, 6(2), 521-529.

Ghasemzadeh, A., Ashkani, S., Baghdadi, A., Pazoki, A., Jaafar, H., Rahmat, A. (2016). Improvement in Flavonoids and Phenolic Acids Production and Pharmaceutical Quality of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) by Ultraviolet-B Irradiation. *Molecules*, 21(9), 1203.

Ghosh K. (2013). Anticancer effect of lemongrass oil and citral on cervical cancer cell lines. *Pharmacognosy Communications*, 3(4), 41-48.

Giacomelli, J. I., Cabello, J. V., Arce, A. L., Dezar, C. A., Ariel, F. D., Chan, R. L. (2008). Mecanismos moleculares de respuesta a distintos tipos de estrés abiótico en las plantas. Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Recuperado de <http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/27719/15-Mecanismos+moleculares+de+respuesta+a+distintos+tipos.pdf;jsessionid=F167FBF3A359424506D324C5937E46ED?sequence=1>

Granados, C., Yáñez, X., Acevedo, D. (2014). Evaluación de la Actividad Antioxidante del Aceite Esencial Foliar de *Myrcianthes leucoxyla* de Norte de Santander (Colombia). *Información Tecnológica*, 25(3), 11-16.

Guerra, P. A. (2016). Evaluación de la actividad antioxidante bioautográfica de dos variedades de aceites esenciales andinos *Clinopodium nubigenum* (Kunt) Kuntze y *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers (Tesis pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Quito Ecuador.

Gutiérrez, M. C., Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. *Universidad Politécnica de Catalunya*,

Boletín INTEXTER No. 122, España. Recuperado de

<https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099/2733/5CROMGASES.pdf>

Hasim, S. F., Ayunda, R. D., Faridah, D. N. (2015). Potential of lemongrass leaves extract (Cymbopogon citratus) as prevention for oil oxidation. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(10), 55-60.

Hideg, É., Jansen, M. A., Strid, Å. (2013). UV-B exposure, ROS, and stress: inseparable companions or loosely linked associates? *Trends in plant science*, 18(2), 107-115.

Hübschmann, H. J. (2015). *Handbook of GC-MS: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons. Recuperado de

https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=DJlxBgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR13&dq=Handbook+of+GC/MS.+Fundamentals+and+Applications&ots=PJrBi1G6-T&sig=ckagS-j6CW_EjLJQOF5CIufzBmk#v=onepage&q=Handbook%20of%20GC%2FMS.%20Fundamentals%20and%20Applications&f=false.

Huyskens-Keil, S., Eichholz, I., Kroh, L. W., Rohn S. (2007). UV-B induced changes of phenol composition and antioxidant activity in black currant fruit (*Ribes nigrum* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*,

81, 140-144. Recuperado de:

[file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/2160-8733-1-PB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/2160-8733-1-PB%20(1).pdf)

Indrajith, A., Ravindran, K. C. (2009). Antioxidant potential of Indian medicinal plant in *Phyllanthus amarus* L. under supplementary UV-B radiation. *Recent Research in Science and Technology*, 1(1), 034-042.

Jiménez, A.M, Sánchez, M. M., Martinez, T. M. (2012). Optimización del método captación del radical 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) para evaluar actividad antioxidante en bebida de café. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 28, 67-78.

Joy, P. P., Skaria, B. P., Mathew, S., Joseph, A., Sreevidya, P. (2006). Lemongrass. *Aromatic and medicinal plants research station*. Recuperado de <https://drive.google.com/file/d/0B2svbjeHvGG9MFpZMjBxaW5zcU0/view>

Kauderer, B.; Zamith, H.; Paumgarten, F. (1991). Evaluation of the mutagenicity of α -myrcene in mammalian cells in vitro. *Environmental and Molecular mutagenesis*, 18(1), 28-34.

Kedare, S. B., Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, 48(4), 412-422.

Kohen, R., Nyska, A. (2002). Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30(6), 620-650.

Kumari, R., Agrawal, S. B., Sarkar A. (2009). Evaluation of changes in oil cells and composition of essential oil in lemongrass (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.) due to supplemental Ultraviolet-B irradiation. *Current Science*, 97(8), 1137-1142.

Kumari, R., Prasad, M. N. (2013). Medicinal plant active compounds produced by UV-B exposure. *Sustainable Agriculture Reviews* (pp. 225-254). Springer Netherlands. Recuperado de https://books.google.com.co/books?id=3SNGAAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Kuskoski, E., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini, J., Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment*, 25(4): 726-732.

León, C. D. (2017). Estandarización de la técnica blanqueamiento del betacaroteno para la evaluación de la actividad antioxidante de extractos lipofílicos: plantas medicinales, frutos y microalgas (Tesis de pregrado). Universidad de Cuenca, Ecuador.

Londoño, J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. *Corporación Universitaria Lasallista*. Recuperado de <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/133/3/9.%20129-162.pdf>

Longhi, H. M. (2012). Poaceae: an overview with reference to Brazil. *Rodriguésia*, 63(1), 89-100. Recuperado de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2175-78602012000100008

López, P. C., Paiva, S., Menezes, M., Curcino, I. J., Amaral G. (2013). Citral accumulation in *Cymbopogon citratus* plant as influenced by N6-benzylaminopurine and light intensity. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 25(2), 159-165

López, J. P. (2009). Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos.

Scientia et Technica, 3(43). Recuperado de <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/2319-1767-1-PB.pdf>

Lucena, B. F., Tintino, S. R., Figueredo, F. G., Olivera, C. D., Aguilar, J. J., Cardoso, E. D., Anquino, P. E., Andrade, J. C., Coutinho, H. M., Matias, E. F. (2015). Evaluación de la actividad antibacteriana y moduladora de aminoglucósidos de aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Acta biológica colombiana*, 20(1), 39-45.

Manvitha K., Bidya B. (2013). Review on pharmacological activity of *Cimpongon citratus*. *International Journal of Herbal Medicine*, 1(6), 5-7.

Martínez, E., Fernández, I., Fuentes, A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Universidad Politécnica de Valencia, España. Recuperado de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>

Martínez, R. M. (2008). Influencia del riego sobre el rendimiento en cultivo de tres especies de genero *Thymus* Estudio de la variabilidad intraespecífica (Tesis doctoral). Universidad de Murcia, España.

Masamba, W. R.L., Kamanula, J.F.M., Henry, E. M., Nyirenda, G. K. C. (2003). Extraction and analysis of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil: An essential oil with potential to control the Larger Grain Borer (*Prostephanus truncatus*) in stored products in Malawi. *Malawi Journal of Agricultural Sciences*, 2(1), 56-64.

McMurry, J. (2012). *Química orgánica*. Recuperado de https://books.google.com.co/books/about/Quimica_Org%C3%A1nica.html?id=okQZdnD_MvQC&redir_esc=y

Mendoza, D. I., Taborda, M. (2010). Composición química y actividad acaricida del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* Stapf contra el acaro intradomiciliario *Dermatophagoides farinae* (Acari: Pyroglyphidae). *Biosalud*, 9(2), 21-31.

Mérida, M. S. (2012). Estudio del rendimiento y composición del aceite esencial de diferentes poblaciones silvestres de *Lippia chiapasensis* Loes. del altiplano occidental guatemalteco (Tesis de pregrado) Universidad de San Carlos de Guatemala.

Mesa, A. M., Gaviria, C. A., Cardona, F., Sáez, J. A., Blair, S., Rojano, B. A. (2010). Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum*. *Revista Cubana de plantas medicinales*, 15(2), 13-26. Recuperado de http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol_15_2_10/pla03210.htm

Mirghani, M. E. S., Liyana, Y., Parveen, J. (2012). Bioactivity analysis of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*). *International Food Research Journal*, 19(2), 569-575. Recuperado de [http://agris.upm.edu.my:8080/dspace/bitstream/0/12811/1/Bioactivity%20analysis%20of%20lemongrass%20\(Cymbopogon%20citratus\)%20essential%20oil.pdf](http://agris.upm.edu.my:8080/dspace/bitstream/0/12811/1/Bioactivity%20analysis%20of%20lemongrass%20(Cymbopogon%20citratus)%20essential%20oil.pdf)

Montoliu, A. (2010). Respuestas fisiológicas de los cítricos sometidos a condiciones de estrés biótico y abiótico. Aspectos comunes y específicos (Tesis doctoral). Universitat Jaume, Castellón de la Plana España. Recuperado de <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/22656/montoliu.pdf>

Muller-Xing, R., Xing, Q., Goodrich, J. (2014). Footprints of the sun: memory of UV and light stress in plants. *Front Plant Sci*, 5(474). Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4165212/>

Montañez, M. C., Castellanos, E. F. (2017). Composición química del aceite esencial y evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana de las especies vegetales *Smallanthus pyramidalis* (arboloco) y *Alnus acuminata* (aliso). Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá Colombia.

Montoya, G. J. (2010). Aceites esenciales, Una alternativa de diversificación para el eje cafetero. Universidad Nacional de Colombia, Manizales. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/50956/7/9588280264.pdf>

Morales, J. I. (2013). Estudio de las emisiones de terpenos por la especie nativa *Schinus molle* L. (Pimiento), sus variaciones temporales y su contribución al mejoramiento del inventario de emisiones de la región metropolitana (Tesis pregrado). Universidad de Chile, Santiago de Chile. Recuperado de http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/115135/morales_ji.pdf?sequence=1

Mu'azu, K., Adbullahi, M., Inuwa, B., Umaru S., Adam, A., Khalid, M. A. (2016). Effect of different extraction method on yield & composition of essential oil from Lemon grass (*cymbopogon citratus*) & Eucalyptus. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*, 6(2), 2231-2560

Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN). (2008). Cromatografía de gases. España. Recuperado de

http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf

Nambiar, V. S. (2012). Potential Functions of Lemon Grass *Cymbopogon citratus* in Health and Disease. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive*, 3(5). Recuperado de <http://ijpba.info/ijpba/index.php/ijpba/article/viewFile/816/548>

Negrelle, R. R. B., Gomes, E. C. (2007). *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: chemical composition and biological activities. *Rev. Bras Pl Med*, 9(1), 80-92. Recuperado de http://www.sbpmed.org.br/download/issn_07_1/revisao_v9_n1.pdf

Olguín, L. P., Rodríguez, H. M. (2004). Cromatografía de gases. Universidad Nacional Autónoma de México.

Oliveira V., Freitas M., Braz-Filho R., Vieira I. (2009). Atividade biológica e alcalóides indólicos do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae): uma revisão. *Revista Brasileira de Plantas Medicinales*, 11(1), 92-99. Recuperado de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722009000100015

Olorunnisola, S. K., Hammed, A. M., Simsek, S. (2014). Biological properties of lemongrass: An overview. *International Food Research Journal*, 21(2), 455-462. Recuperado de [http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20\(02\)%202014/4%20IFRJ%2021%20\(02\)%202014%20043.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20(02)%202014/4%20IFRJ%2021%20(02)%202014%20043.pdf)

Orjuela, A. A. (2015). Determinación de actividad antioxidante de extractos y fracciones de hojas de *Chromolaena perglabra* (B. L. Robinson) R.M. King & H. Robinso (Tesis de pregrado) . Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales UDCA, Bogotá. Recuperado de

<http://repository.udca.edu.co:8080/jspui/bitstream/11158/408/1/Determinaci%C3%B3n%20de%20actividad%20antioxidante%20de%20extractos%20y%20fracciones%20de%20hojas%20de%20Chromolaena%20perglabra%20%28B.%20L.%20Robinson%29%20R.%20M~1.pdf>

Ortiz, Y. (2016). Aprovechamiento de la actividad antioxidante de extractos y aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis* L.), tomillo (*Thymus vulgaris* L.) y menta (*Mentha spicata* L.) como aditivo funcional en aceites comestibles (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Pala, J. (2002). Contribución a l conocimiento de los aceites esenciales del género “Eryngium” L, en la península Ibérica (Tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid, España. Recuperado de <http://biblioteca.ucm.es/tesis/bio/ucm-t26240.pdf>

Palomino L. R., García C. M., Gil J. H., Rojano B. A., Durango D. L. (2009). Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia Colombia. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 16(3), 388-395.

Peralta, M. del R., Volke, T. L. (2012). La defensa antioxidante en las plantas: una herramienta clave para la fitorremediación. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11(1), 75-88. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382012000100006

Perdomo, D., Palomarez, B. (2015). Extracción y evaluación de rendimiento de los aceites esenciales del árbol *Aniba Perutilis Hemsley* (Comino) mediante el método de arrastre por vapor. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD (Tesis de pregrado), Florencia Colombia.

Pinto, M., Lizana, C., Pastenes, C., Riquelme, A., Berti, M. (2000). Efecto de la radiación ultravioleta-B sobre el crecimiento y la fotosíntesis de siete variedades de trigo (*Triticum aestivum* L.). *Revista Chilena de Historia Natural*, 73(1), 55-66. Recuperado de http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-078X2000000100007

Pinto, Z. T., Sánchez, F. F., Santos, A. R. D., Amaral, A. C. F., Ferreira, J. L. P., Escalona-Arranz, J. C., & Queiroz, M. M. D. C. (2015). Chemical composition and insecticidal activity of *Cymbopogon citratus* essential oil from Cuba and Brazil against housefly. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 24(1), 36-44.

Piñeros, Y., Otálvaro, A., Velásquez, M. (2009). Efecto de la aplicación de elicitores sobre la producción de 4 β -hidroxiwithanolido E, en raíces transformadas de *Physalis peruviana* L. *Universitas Scientiarum*, 14(1), 23-28. Recuperado de <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/1396/4384>

Plascencia, G. (2003). Espectrometría de masas. Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca México. Recuperado de <http://studylib.es/doc/5274226/el-espectr%C3%B3metro-de-masas---instituto-de-biotecnolog%C3%ADa>

Quintanar, M. A., Calderón, V. J. (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*, 28(3), 89-101.

Ramírez, A. R. (2016). Evaluación del efecto de la aplicación de radiación UV-B durante la Poscosecha en la calidad de los extractos de tomillo (*Thymus vulgaris* L.) (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Ramírez, R. A., Herrera, A. O., Pérez, C. P. (2013). Efecto de la aplicación de elicitores físicos durante la poscosecha en aceites esenciales de aromáticas. *Memorias evento zonal Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD*. Recuperado de <file:///C:/Users/USUARIO/Dropbox/universidad/tesis/articulos/resultados%20esperados/unad%20pag%2027.pdf>

Ramírez, R. A., Herrera, A. O., Pérez, C. P. (2014). Efecto de la aplicación de elicitores físicos en el porcentaje de materia seca en plantas de tomillo (*Thymus vulgaris* L.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 67(2), 327 – 330. Recuperado de <http://www.medellin.unal.edu.co/iicta2014/doc/Memorias%20IICTA%202014.pdf>

Ramírez, J. P. (2013). Influencia de las técnicas culinarias sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en hortalizas de la dieta mediterránea (Tesis doctoral). Universidad de Granada, España. Recuperado de <https://hera.ugr.es/tesisugr/22622457.pdf>

Ramos, G., Frutos, P., Giráldez, F. J., Mantecón, A. R. (1998). Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Archivos de zootecnia*, 47(180), 597-620.

Ravindran, K. C., Indrajith, A., Pratheesh, P. V., Sanjiviraja, K., Balakrishnan, V. (2010). Effect of Ultraviolet-B radiation on biochemical and antioxidant defence system in *Indigofera tinctoria* L. seedlings. *International Journal of Engineering, Science and Technology*, 2(5), 226-232.

Requena, A., Tomas, L. (2008). *Triadas: Nuevas Lecturas en Ciencia y Tecnología*. Recuperado de https://books.google.com.co/books?id=vG6AbvmwrlwC&printsec=frontcover&hl=es&source=gb_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Riveros A. S. (2010). Inducción de resistencia en plantas. Interacción: Planta-Patógeno. Recuperado de

https://books.google.com.co/books?id=RyQwYtnw220C&printsec=frontcover&hl=es&source=gs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Rodríguez, O. E., Andrade, W. A., Díaz, F. E. (2015). Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae). *Revista de Tecnología*, 14(2), 21-36.

Recuperado de https://issuu.com/universidadelbosque/docs/web-rev_tecnologia_ub_vol-14-num-2/31

Rodríguez, R., Ruiz, C., Arias, G., Castro, H., Martínez, J., Stashenko, E. (2012). Estudio comparativo de la composición de los aceites esenciales de cuatro especies del género *Cymbopogon* (Poaceae) cultivadas en Colombia. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11(1), 77-85.

Samaniego, C. (2006). Estudio y evaluación de la capacidad antioxidante de aceites de oliva virgen extra. Implicación en la salud (Tesis doctoral). Universidad de Granada, España.

Recuperado de <https://hera.ugr.es/tesisugr/16068282.pdf>

Sanli, A., Karadogan, T. (2016). Geographical impact on essential oil composition of endemic *Kundmannia anatolica* Hub. -Mor. (Apiaceae). *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14(1), 131-137. Recuperado de

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5411863/>

Sánchez L. (2015). Evaluación de las propiedades funcionales del mango durante el almacenamiento (Tesis de pregrado). Universidad Miguel Hernández de Elche, España.

Santacruz L. A. (2011). Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Selim, S. A. (2011). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extract of the Egyptian lemongrass *Cymbopogon proximus* Stapf. *Grasas y Aceites*, 62(1), 55-61. Recuperado de <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/1298/1297>

Sepúlveda, G., Porta, H., Rochas, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 355-363. Texcoco, México. Recuperado de <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/La+Participaci%C3%BDn+de+los+Metabolitos+Secundarios+en+la+Defensa+de+las+Plantas++.pdf>

Settharaksa, S., Jongjareonrak, A., Hmadhlu, P., Chansuwan, W., Siripongvutikon, S. (2012). Flavonoid, phenolic contents and antioxidant properties of Thai hot curry paste extract and its ingredients as affected of pH, solvent types and high temperature. *International Food Research Journal*, 19(4), 1581-1587. Recuperado de [http://www.ifrj.upm.edu.my/19%20\(04\)%202012/39%20IFRJ%2019%20\(04\)%202012%20Sunisa%20\(368-1\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/19%20(04)%202012/39%20IFRJ%2019%20(04)%202012%20Sunisa%20(368-1).pdf)

Shah, G., Shri, R., Panchal, V., Sharma, N., Singh, B., Mann, A. S. (2011). Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, Stapf (Lemon grass). *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 2(1), 3-8. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3217679/>

Shinella, G. R. (2014). Actividad antioxidante y efecto cardioprotector d *Ilex brasiliensis*: un estudio comparativo con *Ilex paraguariensis* (yerba mate) (Tesis de maestría). Universidad Nacional de la Plata, Argentina. Recuperado de http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/43570/Documento_completo_.pdf?sequence=1

Singh, N., Luthra, R., Sangwan, R. (1989). Effect of leaf position and age on the essential oil quantity and quality in lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*). *Planta Med*, 55(3), 254-256.

Stashenko, E. E., Martínez, J. R. (2010). Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. *Scientia Chromatographica*, 2(1), 29-47. Recuperado de <http://scientiachromatographica.com/files/v2n1/v2n1a3.pdf>

Soriano, L. de A. (2013). Contenido antioxidante en Damiana (*Turnera diffusa* Willd.) y factores que lo modifican: condiciones ambientales, de cultivo y manejo poscosecha (Tesis de posgrado). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C, La Paz, Baja California Sur.

Soto R., Vega G., Tamajón A. (2002). Instructivo técnico para el cultivo de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (Caña santa). Revista Cubana de Plantas Medicinales. Vol. 7 No. 2.

Sousa, S. M., Silva, P. S., Viccini, L. F. (2010). Cytogenotoxicity of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (*Lemongrass*) aqueous extracts in vegetal test systems. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 82(2), 305-311. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/aabc/v82n2/06.pdf>

Srivastava, U., Ojha, S., Tripathi, N. N., Singh, P. (2015). In vitro antibacterial, antioxidant activity and total phenolic content of some essential oils. *Journal of environmental biology*, 36(6), 1329-1336. Recuperado de

https://www.researchgate.net/profile/Pooja_Singh39/publication/285591906_In_vitro_antibacterial_antioxidant_activity_and_total_phenolic_content_of_some_essential_oils/links/566134ed08aebae678aa6a25.pdf

Tajidin, N. E., Ahmad, S. H., Rosenani, A. B., Azimah, H., Munirah, M. (2012). Chemical composition and citral content in lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil at three maturity stages. *African Journal of Biotechnology*, 11(11), 2685-2693.

Tavares, F., Costa, G., Francisco, V., Liberal, J., Figueirinha, A., Lopes, M. C., Batista, M. T. (2015). *Cymbopogon citratus* industrial waste as a potential source of bioactive compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(13), 2652-2659.

Tenorio, F. A., Del Valle, L., Pastelin, G. (2006). Los flavonoides y el sistema cardiovascular: ¿Pueden ser una alternativa terapéutica?. *Archivos de Cardiología de México*, 76(4), 33-45.

Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-99402006000800004

Thekkan, S., Tamilselvi, S. S., Venkatachalapathy, A., Paulsamy, S. (2016). Impact of environmental factors on citral concentration in the lemongrass oil distilled from *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Journal of Research in Ecology*, 4(1). Recuperado de <http://ecologyresearch.info/documents/EC0036.pdf>

Tiwari, M., & Kakkar, P. (2009). Plant derived antioxidants—geraniol and camphene protect rat alveolar macrophages against t-BHP induced oxidative stress. *Toxicology in vitro*, 23(2), 295-301.

Torrenegra, M. E. (2014). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar extraído de especies de orégano (*Origanum vulgare*), orégano “borde blanco” (*Origanum vulgare* ssp) y oreganito (*Lippia alba* Mill.) cultivado en la zona norte del departamento de Bolívar (Colombia) (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Cartagena.

Tovar, J. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 planta recolectadas en la ecorregión cafetera (Tesis de pregrado). Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.

Vallejo, E. O., Vargas, N., Martínez, L. M., Agudelo, C. A., Ortiz, I. C. (2013). Perspectiva genética de los rayos UV y las nuevas alternativas de protección solar. *Revista Argentina de Dermatología*, 4(3). Recuperado de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-300X2013000300002

Varales, C. (2011). Variación del metalismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente (Tesis doctoral). Universidad de Extremadura, Badajoz-España.

Vázquez, Del C. M., Hernández, L. R., Guerrero, J. A. (2015). Physicochemical and antioxidant properties of *Cymbopogon citratus* essential oil. *Journal of Food Research*, 4(3), 36. Recuperado de <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/43400-157526-1-PB.pdf>

Villalobos, M. C. (2015). Antioxidant Activity and Citral Content of Different Tea Preparations of the Above-Ground Parts of Lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.). *Central Philippine University*. Recuperado de [https://dirp3.pids.gov.ph/serp-p/htdocs/centralu/RO%202015-10%20Villalobos%20\(Antioxidant%20Activity%20and%20Citral%20Content%20of%20Differe](https://dirp3.pids.gov.ph/serp-p/htdocs/centralu/RO%202015-10%20Villalobos%20(Antioxidant%20Activity%20and%20Citral%20Content%20of%20Differe)

[nt%20Tea%20Preparations%20of%20the%20Above-Ground%20Parts%20of%20Lemongrass\).pdf](#)

Vinutha, M., Suchetha, M., Saraswathi, K. J. (2016). Effect of different abiotic stress on essential oil yield from aerial part of *Cymbopogon flexuosus* (nees ex steud) wats. *International Journal of Advanced Research*, 4(12), 1490-1504. Recuperado de: http://www.journalijar.com/uploads/738_IJAR-13854.pdf

Vuarant, C. O. (2010). Arándanos: Avances científicos y tecnológicos. Recuperado de https://books.google.com.co/books?id=T6guJXmBSqEC&pg=PA201&lpg=PA201&dq=diferencias+de+valores+ABTS+y+DPPH&source=bl&ots=Iz5x5nC_nv&sig=yRNMXuBPA9y9TwAyZQI34aHCfjY&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiczG7IMHWAhXCKiYKHd8wB3E4ChDoAQg5MAM#v=onepage&q=diferencias%20de%20valores%20ABTS%20y%20DPPH&f=false

Zhaohui, X., Jiaomei, L., Wancong, Y., Xiaotong, L., Xiaohong, K. (2015). Effects of non-thermal preservation technologies on antioxidant activity of fruits and vegetables: A review. *Food Science and Technology International*, 22(5), 440-458.

Zlatev, Z. S., Lidon, F. J., Kaimakanova, M. (2012). Plant physiological responses to UV-B radiation. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24(6), 481-501. Recuperado de <https://www.ejmanager.com/mnstemps/137/14669-40772-1-PB.pdf>

A.Anexo A: análisis estadístico ANOVA

ANOVA Rendimiento de extracción

Estado fenológico / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95%:

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
Estado fenologico-1 vs Estado fenologico-2	0,029	2,746	4,303	0,111	No
Valor crítico del d de Tukey:			6,085		

Estado fenológico 1: punto de corte; estado fenológico 2: 17 días después de punto de corte

Categoría	Medias LS	Grupos
Estado fenologico-1	0,291	A
Estado fenologico-2	0,261	A

Tiempo de adaptación / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95%:

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
Tiempo de Adaptacion-3 vs Tiempo de Adaptacion-1	0,052	3,992	5,891	0,103	No
Tiempo de Adaptacion-3 vs Tiempo de Adaptacion-2	0,014	1,033	5,891	0,630	No
Tiempo de Adaptacion-2 vs Tiempo de Adaptacion-1	0,039	2,959	5,891	0,172	No
Valor crítico del d de Tukey:			8,331		

Tiempo de adaptación 1: control; Tiempo de adaptación 2: 15 minutos; Tiempo de adaptación 3: 30 minutos;

Categoría	Medias LS	Grupos
Tiempo de Adaptacion-3	0,298	A
Tiempo de Adaptacion-2	0,284	A
Tiempo de Adaptacion-1	0,245	A

ANOVA Contenido de fenoles totales

Estado fenológico / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95%:

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
Estado fenológico-1 vs Estado fenológico-2	0,430	0,287	4,303	0,801	No
Valor crítico del d de Tukey:			6,085		

Estado fenológico 1: punto de corte; estado fenológico 2: 17 días después de punto de corte

Categoría	Medias LS	Grupos
Estado fenológico-1	13,133	A
Estado fenológico-2	12,703	A

Tiempo de adaptación / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95%:

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
Tiempo de Adaptacion-1 vs Tiempo de Adaptacion-3	1,445	0,787	5,891	0,746	No
Tiempo de Adaptacion-1 vs Tiempo de Adaptacion-2	0,090	0,049	5,891	0,999	No
Tiempo de Adaptacion-2 vs Tiempo de Adaptacion-3	1,355	0,738	5,891	0,769	No
Valor crítico del d de Tukey:			8,331		

Tiempo de adaptación 1: control; Tiempo de adaptación 2: 15 minutos; Tiempo de adaptación 3: 30 minutos;

Categoría	Medias LS	Grupos
Tiempo de Adaptacion-1	13,430	A
Tiempo de Adaptacion-2	13,340	A
Tiempo de Adaptacion-3	11,985	A

ANOVA Actividad antioxidante método DPPH

Estado fenológico / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95%:

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
Estado fenológico-1 vs Estado fenológico-2	0,770	0,238	4,303	0,834	No
Valor crítico del d de Tukey:			6,085		

Estado fenológico 1: punto de corte; estado fenológico 2: 17 días después de punto de corte

Categoría	Medias LS	Grupos
Estado fenológico-1	65,200	A
Estado fenológico-2	64,430	A

Tiempo de adaptación / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95%:

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
Tiempo de Adaptacion-1 vs Tiempo de Adaptacion-3	2,145	0,232	5,891	0,971	No
Tiempo de Adaptacion-1 vs Tiempo de Adaptacion-2	1,555	0,168	5,891	0,985	No
Tiempo de Adaptacion-2 vs Tiempo de Adaptacion-3	0,590	0,064	5,891	0,998	No
Valor crítico del d de Tukey:			8,331		

Tiempo de adaptación 1: control; Tiempo de adaptación 2: 15 minutos; Tiempo de adaptación 3: 30 minutos;

Categoría	Medias LS	Grupos
Tiempo de Adaptacion-1	66,185	A
Tiempo de Adaptacion-2	64,630	A
Tiempo de Adaptacion-3	64,040	A

ANOVA Actividad antioxidante método ABTS

Estado fenológico / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95%:

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
Estado fenológico-2 vs Estado fenológico-1	0,033	0,048	4,303	0,966	No
Valor crítico del d de Tukey:			6,085		

Estado fenológico 1: punto de corte; estado fenológico 2: 17 días después de punto de corte

Categoría	Medias LS	Grupos
Estado fenológico-2	91,887	A
Estado fenológico-1	91,853	A

Tiempo de adaptación / Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre las categorías con un intervalo de confianza de 95%:

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
Tiempo de Adaptacion-3 vs Tiempo de Adaptacion-2	0,930	1,324	5,891	0,509	No
Tiempo de Adaptacion-3 vs Tiempo de Adaptacion-1	0,100	0,142	5,891	0,989	No
Tiempo de Adaptacion-1 vs Tiempo de Adaptacion-2	0,830	1,182	5,891	0,566	No
Valor crítico del d de Tukey:			8,331		

Tiempo de adaptación 1: control; Tiempo de adaptación 2: 15 minutos; Tiempo de adaptación 3: 30 minutos;

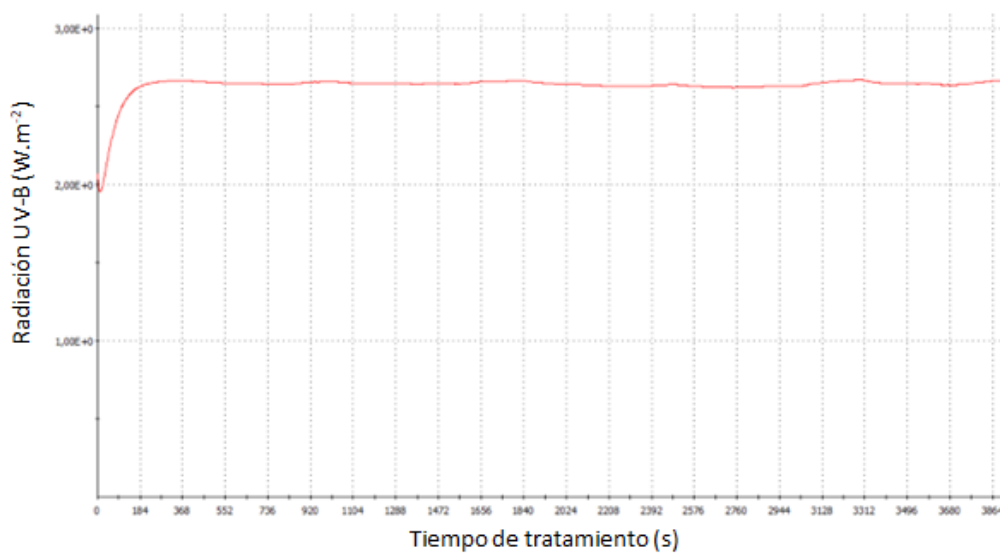
Categoría	Medias LS	Grupos
Tiempo de Adaptacion-3	92,220	A
Tiempo de Adaptacion-1	92,120	A
Tiempo de Adaptacion-2	91,290	A

B.Anexo B:Dosis de radiación aplicada a la limonaria

Ensayo 1: limonaria en estado fenológico punto de corte

Datos de Radiación UV-B aplicada a la Limonaria	
Radiación acumulada aplicada (Wh.m ⁻²)	10330,601
Dosis media	2,63200025
Radiación aplicada en 60 minutos (Wh.m ⁻²)	0,044
Radiación aplicada por minuto (Wh.m ⁻²)	0,00073111
Radiación total aplicada en 65 minutos (Wh.m ⁻²)	0,048
Desviación aproximada (Wh.m ⁻²)	±0,002

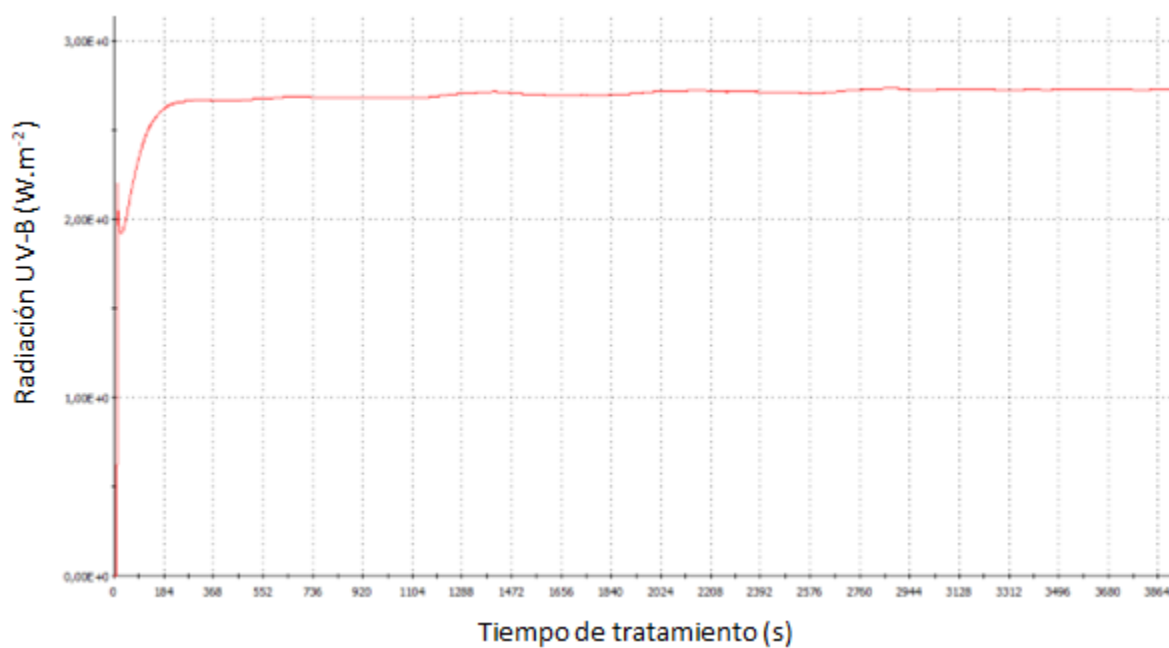
Curva de aplicación de radiación UVB generada por el programa DeltaLog9



Ensayo 2: limonaria en estado fenológico punto de corte

Datos de Radiación UV-B aplicada a la Limonaria	
Radiación acumulada aplicada (Wh.m ⁻²)	10556,441
Dosis media (Wh.m ⁻²)	2,687
Radiación aplicada en 1 hora (Wh.m ⁻²)	0,045
Radiación aplicada por minuto (Wh.m ⁻²)	0,001
Radiación aplicada en 1 hora 5 minutos (Wh.m ⁻²)	0,049
Desviación aproximada (Wh.m ⁻²)	0,001

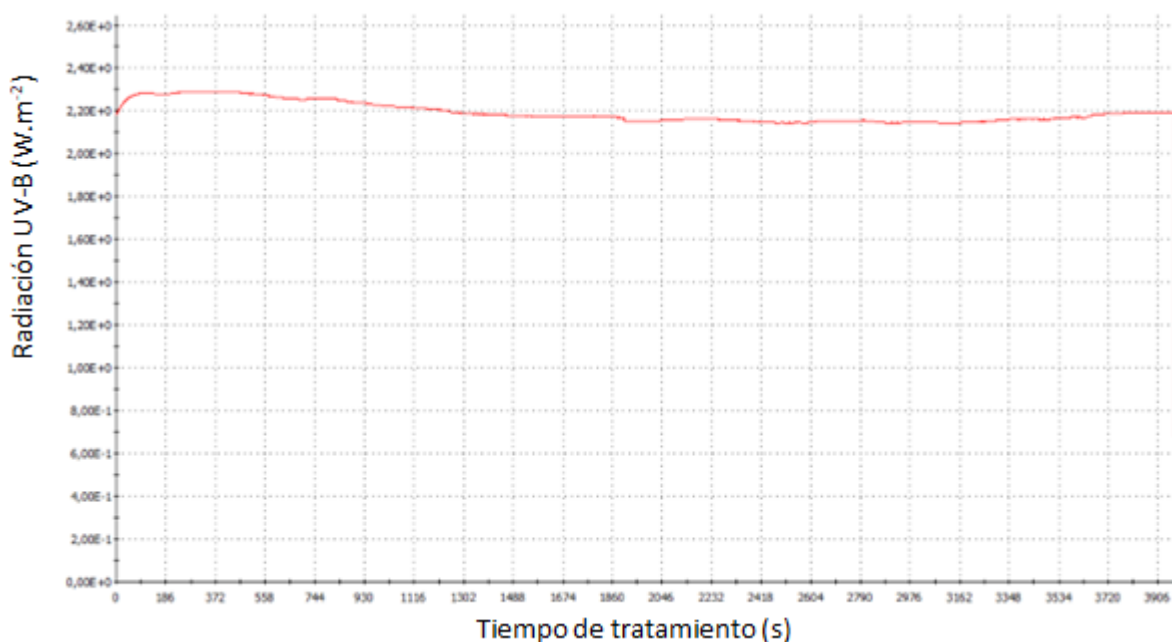
Curva de aplicación de radiación UVB generada por el programa DeltaLog9



Ensayo 3: limonaria en estado fenológico 17 días después de punto de corte

Datos de Radiación UV-B aplicada a la Limonaria		
Radiación acumulada aplicada (Wh.m ⁻²)		8616,942
Dosis media (Wh.m ⁻²)		2,192
Radiación aplicada en 1 hora (Wh.m ⁻²)		0,037
Radiación aplicada por minuto (Wh.m ⁻²)		0,001
Radiación aplicada en 1 hora 5 minutos (Wh.m ⁻²)		0,040
Desviación	aproximada	0,010
(Wh.m ⁻²)		

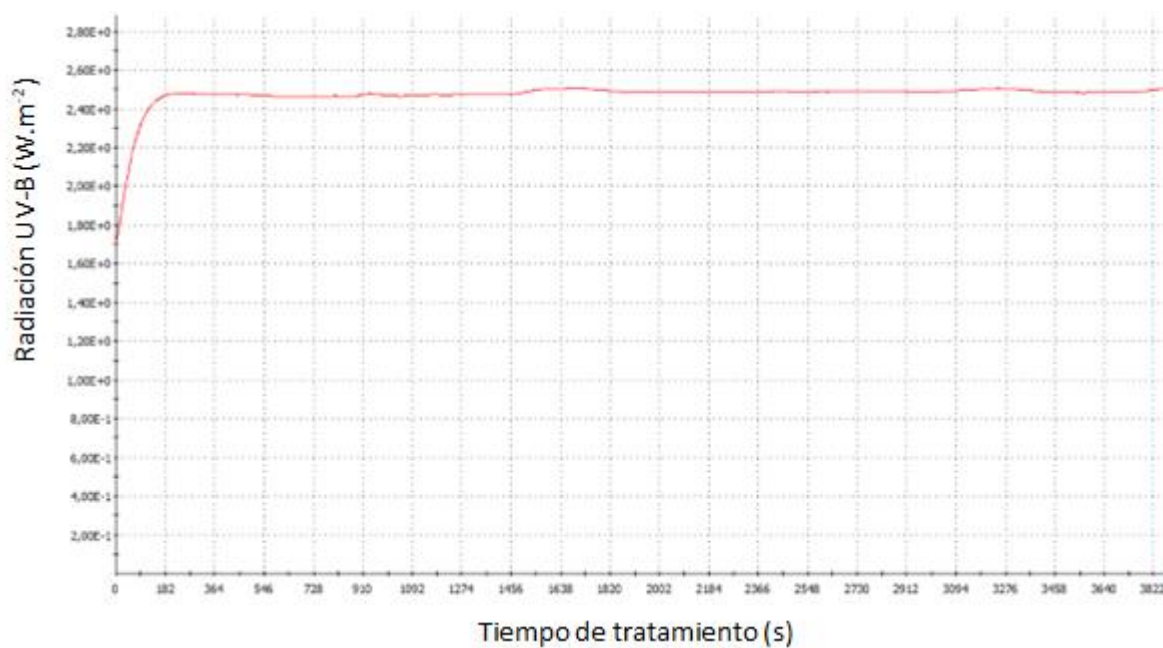
Curva de aplicación de radiación UVB generada por el programa DeltaLog9



Ensayo 4: limonaria en estado fenológico 17 días después de punto de corte

Datos de Radiación UV-B aplicada a la Limonaria	
Radiación acumulada aplicada (Wh.m ⁻²)	9640,607
Dosis media (Wh.m ⁻²)	2,472
Radiación aplicada en 1 hora (Wh.m ⁻²)	0,041
Radiación aplicada por minuto (Wh.m ⁻²)	0,001
Radiación aplicada en 1 hora 5 minutos (Wh.m ⁻²)	0,045
Desviación aproximada (Wh.m ⁻²)	0,005

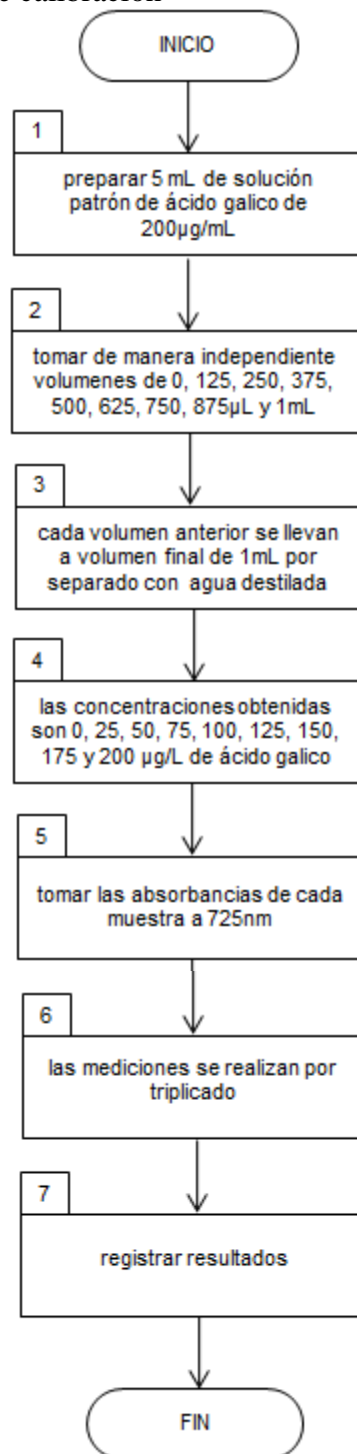
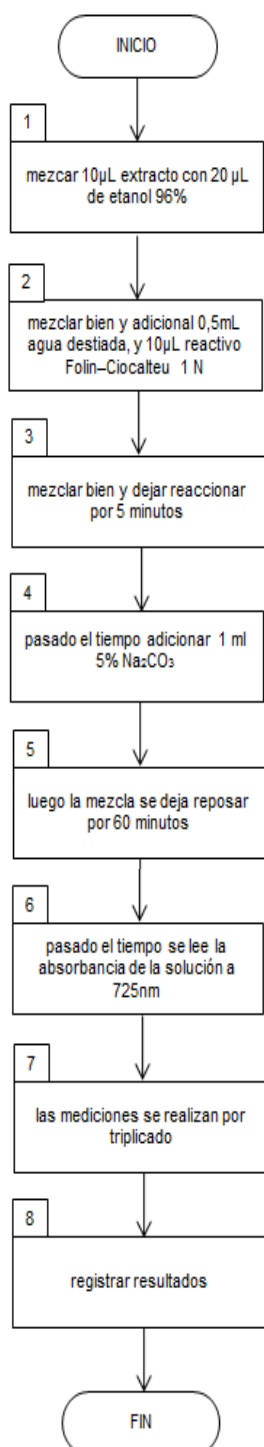
Curva de aplicación de radiación UVB generada por el programa DeltaLog9



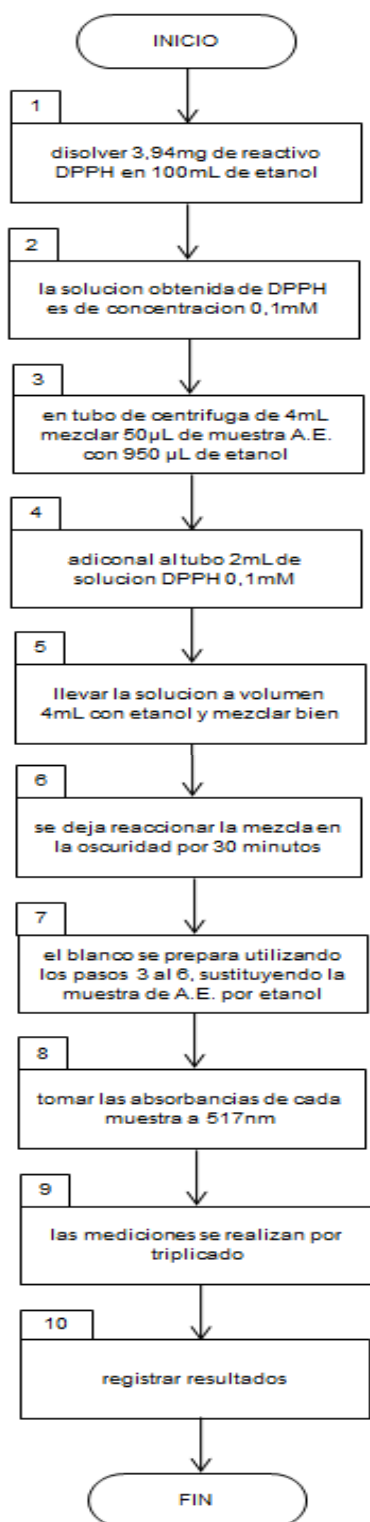
C.Anexo C: Protocolos

Contenido de fenoles: Método Folin-Ciocalteu, (Adaptado de Chun *et al*, 2005)

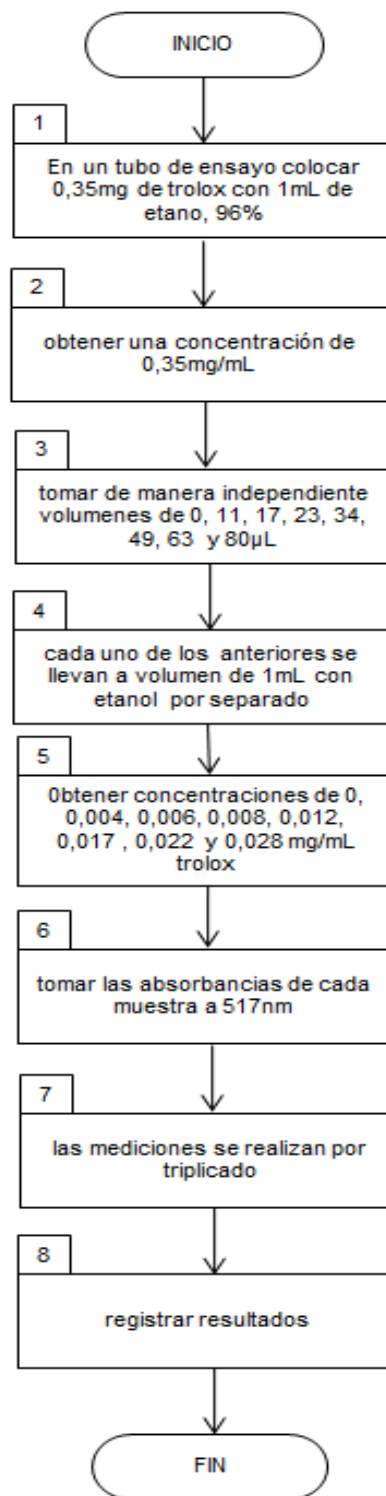
Curva de calibración



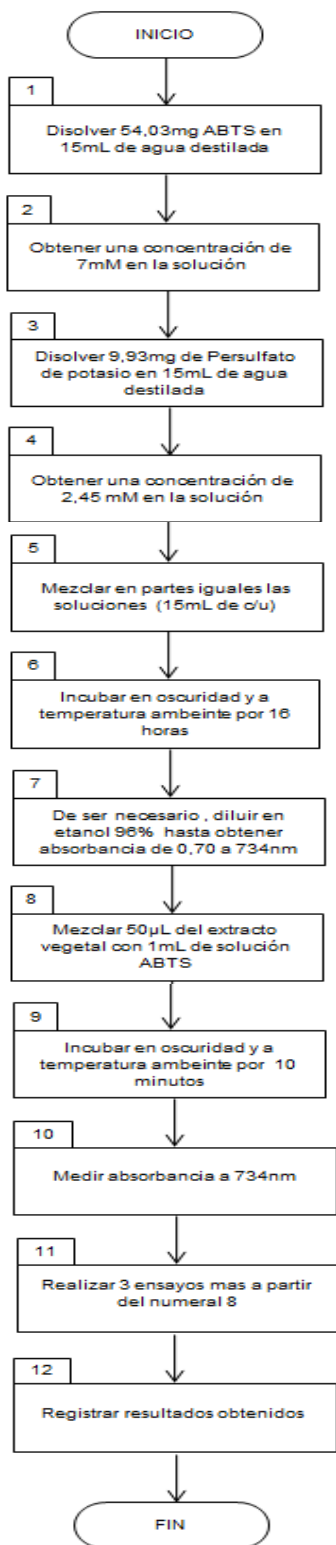
Actividad antioxidante: Método DPPH, (Adaptado de Vásquez *et al*, 2015)



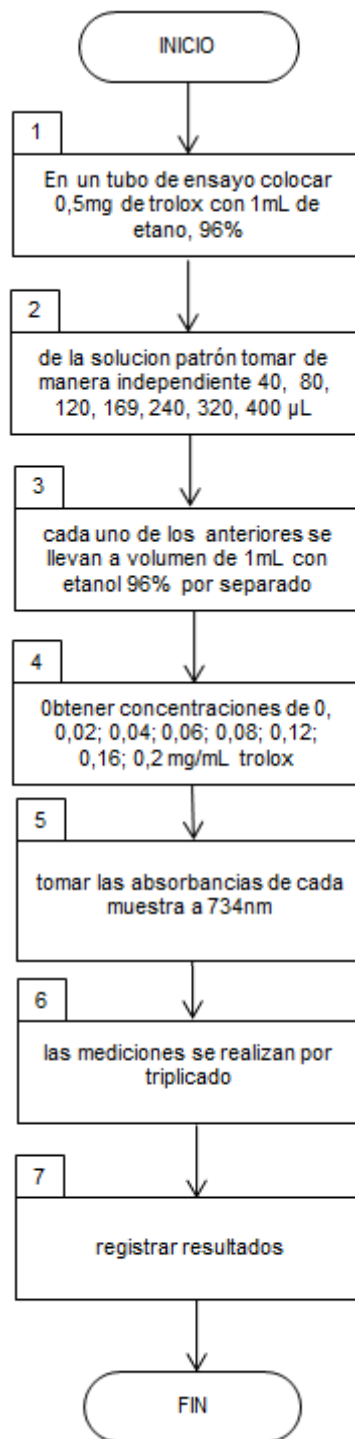
Curva de calibración



Actividad antioxidante: Método ABTS, (Adaptado de Alvis *et al*, 2012)



Curva de calibración



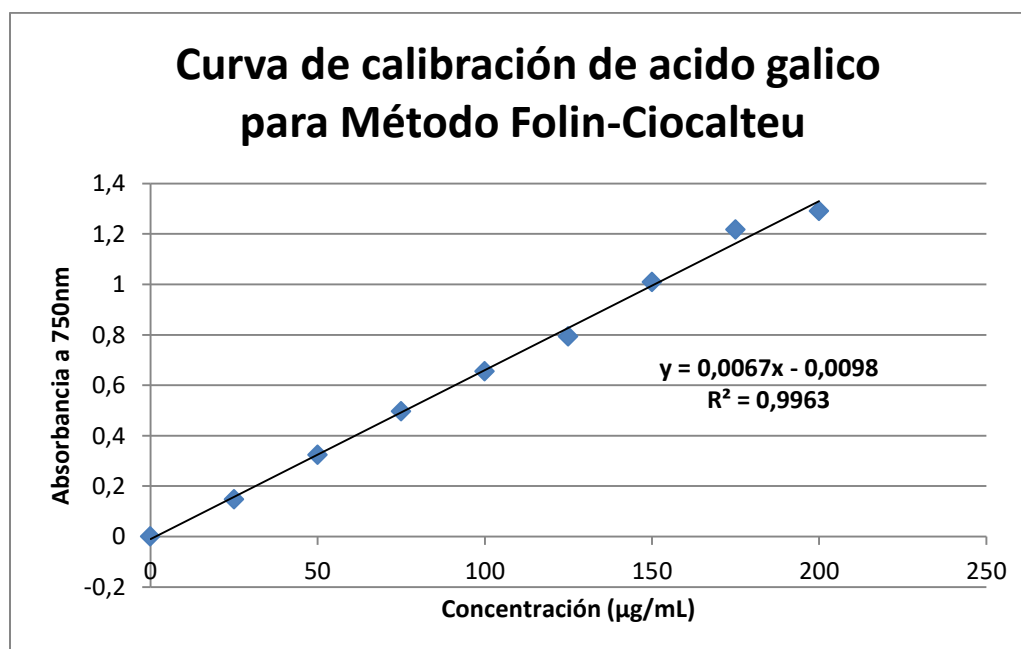
D.Anexo D: Curvas de calibración para las variables de estudio

Contenido de fenoles: Método Folin-Ciocalteu

- Datos curva de calibración ácido gálico para método Folin-Ciocalteu

No. Tubos	Concentración (µg/ mL)	Absorbancia (725 nm)
1	0	0
2	25	0,148
3	50	0,324
4	75	0,497
5	100	0,656
6	125	0,794
7	150	1,01
8	175	1,218
9	200	1,291

- Curva de calibración de ácido gálico para método Folin-Ciocalteu



- Resultados de absorbancia método Folin-Ciocalteu para extractos análisis de Limonaria (*Cymbopogon citratus*)

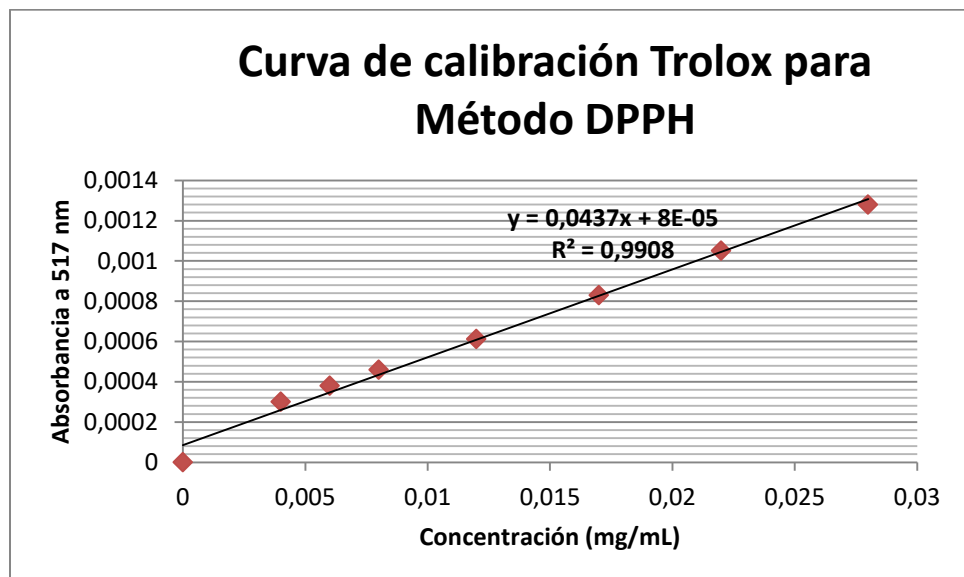
Estado Fenológico	Dosis radiación (Wh.m ⁻²)	Tiempo de adaptación (minutos)	Identificación de extractos	Ensayos			
				1	2	3	Promedio
Punto de corte	0	0	Control (CA)	0,4961	0,4897	0,4972	0,4943 ±0,0033
	0,05	15	AA	0,4121	0,4016	0,4136	0,4091 ±0,0053
		30	AB	0,3984	0,395	0,3798	0,3911 ±0,0081
17 días después de punto de corte	0	0	Control (CB)	0,3828	0,3889	0,3833	0,3850 ±0,0028
	0,05	15	BA	0,4605	0,4597	0,4607	0,4603 ±0,0004
		30	BB	0,403	0,401	0,4035	0,4025 ±0,0011

Actividad antioxidante: Método DPPH

- Datos curva de calibración Trolox para método DPPH

No. Tubos	Concentración (mg/mL)	Absorbancia (517nm)
1	0	0
2	0,004	0,0003
3	0,006	0,00038
4	0,008	0,00046
5	0,012	0,000612
6	0,017	0,00083
7	0,022	0,00105
8	0,028	0,00128

- Curva de calibración de Trolox para método DPPH



- Resultados de absorbancia método DPPH para extractos análisis de Limonaria (*Cymbopogon ciratus*)

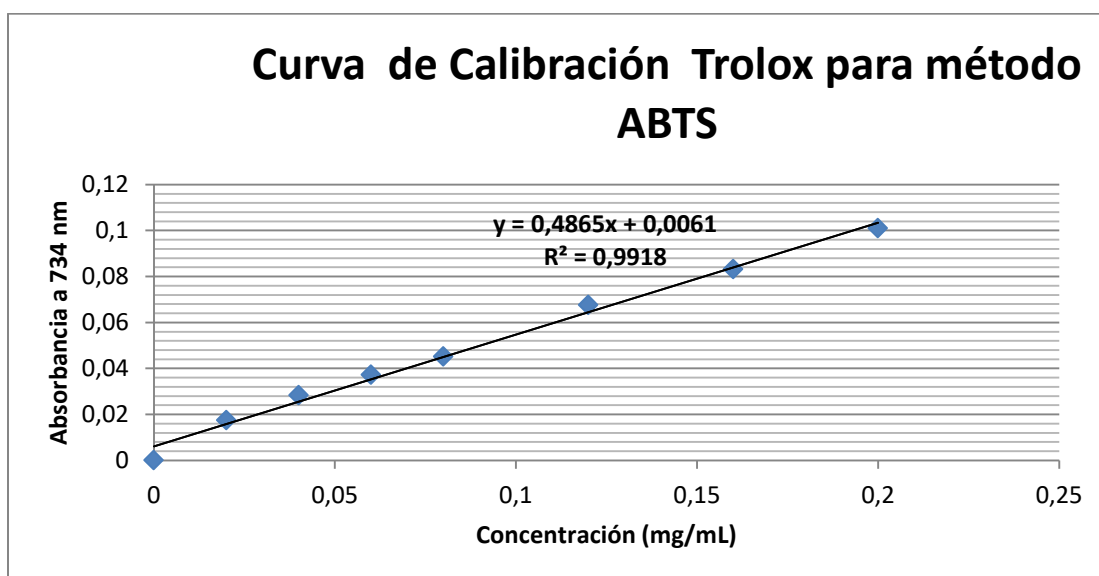
Estado Fenológico	Dosis radiación (Wh.m ⁻²)	Tiempo de adaptación (minutos)	Identificación de extractos	Ensayos			Promedio
				1	2	3	
Punto de corte	0	0	Control (CA)	0,1294	0,1502	0,1423	0,1406 ±0,0086
	0,05	15	AA	0,1176	0,1098	0,1116	0,1130 ±0,0033
		30	AB	0,1236	0,0898	0,1067	0,1067 ±0,0138
17 días después de punto de corte	0	0	Control (CB)	0,1102	0,0805	0,0978	0,0962 ±0,0122
	0,05	15	BA	0,1253	0,1622	0,1395	0,1423 ±0,0152
		30	BB	0,1433	0,1672	0,1486	0,1530 ±0,0102
Absorbancia blanco				0,355	0,355	0,355	0,3550

Actividad antioxidante: Método ABTS

- Datos curva de calibración Trolox para método ABTS

Curva de calibración Trolox para ABTS		
No. Tubo	Concentración (mg/mL)	Absorbancia (734nm)
1	0	0
2	0,02	0,0174
3	0,04	0,0283
4	0,06	0,0372
5	0,08	0,0452
6	0,12	0,0675
7	0,16	0,0831
8	0,2	0,1009

- Curva de calibración de Trolox para método ABTS



- Resultados de absorbancia método ABTS para extractos análisis de Limonaria (*Cymbopogon citratus*)

Estado Fenológico	Dosis radiación (Wh.m ⁻²)	Tiempo de adaptación (minutos)	Identificación de extractos	Ensayos			Promedio
				1	2	3	
Punto de corte	0	0	Control (CA)	0,059	0,0592	0,059	0,0591 ±0,0001
	0,05	15	AA	0,058	0,0582	0,058	0,0581 ±0,0001
		30	AB	0,0555	0,0541	0,055	0,0549 ±0,0006
17 días después de punto de corte	0	0	Control (CB)	0,0535	0,052	0,0512	0,0522 ±0,0010
	0,05	15	BA	0,0675	0,0648	0,0665	0,0663 ±0,0011
		30	BB	0,0508	0,0558	0,0522	0,0529 ±0,0021
Absorbancia blanco				0,706	0,706	0,706	0,7060

E.Anexo E: Cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas

Extracto control de limonaria en punto de corte

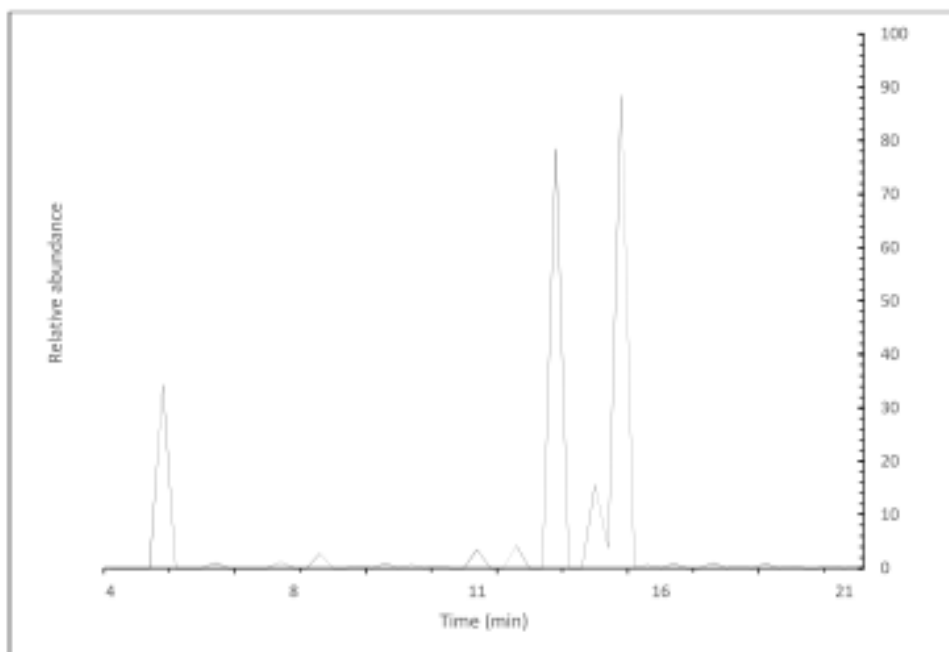
Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



Data File: CONTROLPC
Original Data Path: C:\Xcalibur\Data\UDCA\2017\JULIO\VARIOS
Sample ID: ControlPC
Operator: ITQ
Acquisition Date: 04/07/17 8:29:31 AM
Instrument Method: C:\Xcalibur\methods\LIMONARIA.meth

LIMONARIA.meth:

Initial_Temperature:40°C
Final_Temperature:240°C
Slope: 8°C min⁻¹
Ac instrument: hitachi m-80b
Ac instrument_type: ei-b
Ac mass_spectrometry: ms_type ms
Ac mass_spectrometry: ion_mode positive
Ac mass_spectrometry: ionization_energy 70 ev



RT	PEAK AREA	AREA %
6,49	2747824,53	14,50
7,45	79592,16	0,42

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos

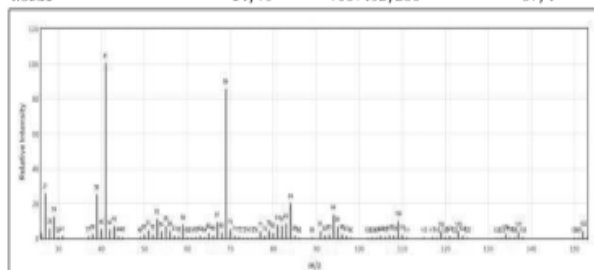


9,10	219825,96	1,16
9,23	28425,77	0,15
10,31	70116,90	0,37
10,40	47376,29	0,25
10,56	26530,72	0,14
10,89	278572,56	1,47
11,38	337319,15	1,78
13,70	6278305,29	33,13
14,18	1246943,82	6,58
14,79	7087492,24	37,40
14,89	49271,34	0,26
16,39	66326,80	0,35
16,67	79592,16	0,42
16,75	20845,57	0,11
17,54	66326,80	0,35
17,86	41691,13	0,22
19,49	34110,93	0,18
22,34	32215,87	0,17

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Neral	14,79	7087492,236	37,4



CH\$NAME: NERAL
CH\$NAME: (Z)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENAL
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H16O
CH\$EXACT_MASS: 152.12012
CH\$SMILES: O=CC=C(C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C10H16O/c1-9(2)5-4-6-10(3)7-8-11/h5,7-8H,4,6H2,1-3H3/b10-7+
CH\$LINK: CAS 106-26-3

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 20 eV

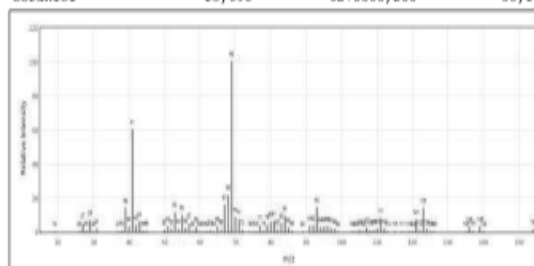
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]+*

PK\$SPLASH: splash10-0141-9100000000-f1553e4536424bf8c464
PK\$NUM_PEAK: 14

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Geraniol	13,698	6278305,288	33,13



CH\$NAME: GERANIOL
CH\$NAME: (E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIEN-1-OL
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H18O
CH\$EXACT_MASS: 154.13577
CH\$SMILES: OCC=C(C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C10H18O/c1-9(2)5-4-6-10(3)7-8-11/h5,7,11H,4,6,8H2,1-3H3/b10-7+
CH\$LINK: CAS 106-24-1

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 20 eV

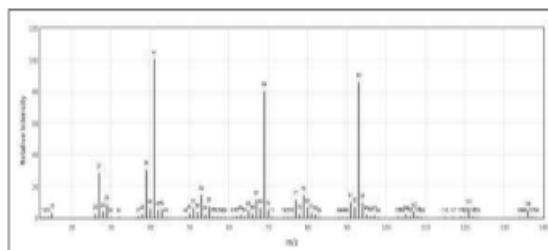
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]+*

PK\$SPLASH: splash10-0141-9100000000-f24e92e3c3efdc35a606
PK\$NUM_PEAK: 12

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
β-myrcene	6,493	2747824,53	14,5



CH\$NAME: BETA-MYRCENE
CH\$NAME: 7-METHYL-3-METHYLENE-1,6-OCTADIENE
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H16
CH\$EXACT_MASS: 136.12520
CH\$SMILES: C=CC(=C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C10H16/c1-5-10(4)8-6-7(2)3/h5,7H,1,4,6,8H2,2-3H3

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

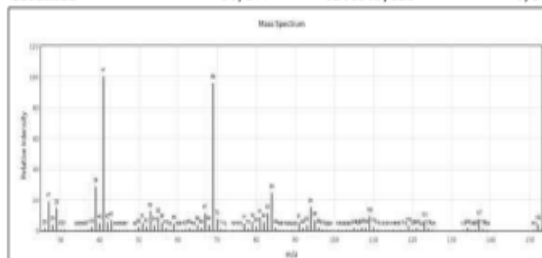
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]+*

PK\$SPLASH: splash10-0006-9000000000-078927c5db5ba8691e12
PK\$NUM_PEAK: 36

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Geranial	14,177	1246943,821	6,58



CH\$NAME: GERANIAL
CH\$NAME: (E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENAL
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H16O
CH\$EXACT_MASS: 152.12012
CH\$SMILES: O=CC=C(C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C10H16O/c1-9(2)5-4-6-10(3)7-8-11/h5,7-8H,4,6H2,1-3H3/b10-7+
CH\$LINK: CAS 141-27-5

CS\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

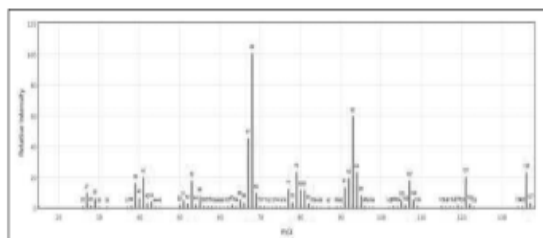
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]+*

PK\$SPLASH: splash10-0141-9100000000-dcdfd8342f2d4ce5a439
PK\$NUM_PEAK: 13

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Dipentene	11,378	337319,1492	1,78



CH\$NAME: LIMONENE
CH\$NAME: PARA-MENTHA-1,8-DIENE
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H16
CH\$EXACT_MASS: 136.12520
CH\$SMILES: CC(C)=C([H])CC([H])(C)C(C)=C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C10H16/c1-8(2)10-6-4-9(3)5-7-10/h4,10H,1,5-7H2,2-3H3/t10-m/a1

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

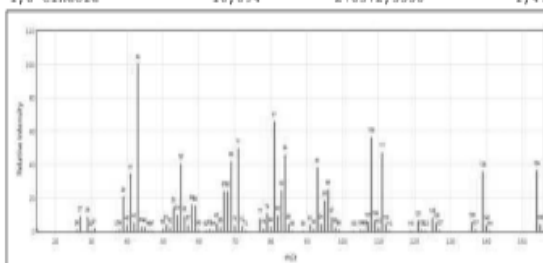
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]+*

PK\$SPLASH: splash10-0173-9100000000-239928f205c8242a700a
PK\$NUM_PEAK: 43

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
1,8 Cineole	10,894	278572,5558	1,47



CH\$NAME: 1,8-CINEOLE
CH\$NAME: 1,3,3-TRIMETHYL-2-OXABICYCLO(2.2.2)OCTANE
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H18O
CH\$EXACT_MASS: 154.13577
CH\$SMILES: N/A
CH\$IUPAC: N/A

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

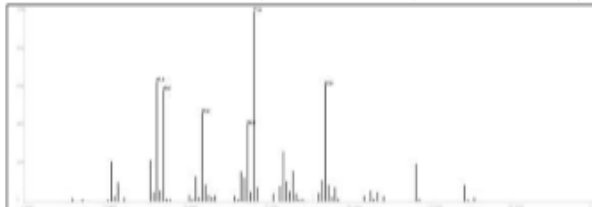
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]+*

PK\$SPLASH: splash10-000x-9200000000-5b8bdb6e2b4bb8695dfd
PK\$NUM_PEAK: 55

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Linalool	9,104	219825,9624	1,16



CH\$NAME: LINALCOL
CH\$NAME: 3,7-DIMETHYL-1,6-OCTADIEN-3-OL
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H18O
CH\$EXACT_MASS: 154.13577
CH\$SMILES: CC(C)=CCCC(C)(O)C=C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C10H18O/c1-5-10(4,11)8-6-7-9(2)3/h5,7,11H,1,6,8H2,2-4H3

AC\$INSTRUMENT_TYPE: EI-B
AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]+*

PK\$SPLASH: splash10-006x-9000000000-fe642a5570c732aea8de
PK\$NUM_PEAK: 57

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



Minor compounds (AREA %<1)

	RT	PEAK AREA	AREA %
o-Cimene	7,734	90962,4672	0,48
Pinene	7,449	79592,1588	0,4
Fenchone	16,671	79592,1588	0,42
Alpha camphorene	10,312	70116,9018	0,37
β-Elemene	16,387	66326,799	0,35
Caryophyllene	17,543	66326,799	0,35
2-Undecanone	14,887	49271,3364	0,26
Caryophyllene oxide	10,396	47376,285	0,25
Eucarvone	17,86	41691,1308	0,22
2-Tridecanone	19,488	34110,9252	0,18
Hexoic acid	22,338	32219,8738	0,17
Camphene	9,226	28425,771	0,15
Citronellal	10,558	26530,7196	0,14
Menthone	16,749	20845,5654	0,11

Extracto de limonaria en estado fenológico punto de corte irradiado a $0,05 \text{ Wh.m}^{-2}$ y tiempo de adaptación 30 minutos

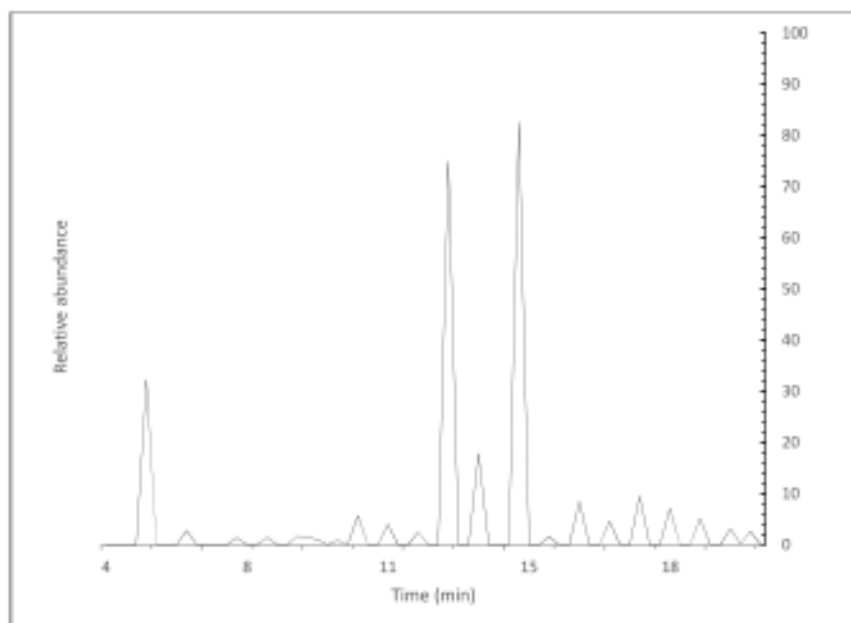
Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



Data File: CONTROLPC
Original Data Path: C:\Xcalibur\Data\UDCA\2017\JULIO\VARIOS
Sample ID: IR 20 DPC 30(1)
Operator: ITQ
Acquisition Date: 04/07/17 3:15:17 PM
Instrument Method: C:\Xcalibur\methods\LIMONARIA.meth

LIMONARIA.meth:

Initial_Temperature:40°C
Final_Temperature:240°C
Slope: 8°C min⁻¹
Ac instrument: hitachi m-80b
Ac instrument_type: ei-b
Ac mass_spectrometry: ms_type ms
Ac mass_spectrometry: ion_mode positive
Ac mass_spectrometry: ionization_energy 70 ev



RT	PEAK AREA	AREA %
14,79	5783696,873	30,52
13,698	5249292,378	27,7
6,493	2257006,217	11,91

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA

Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos

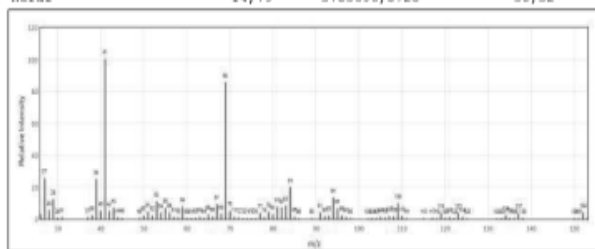


14,177	1246943,821	6,58
16,749	663267,99	3,5
16,387	587465,934	3,1
17,543	492713,364	2,6
10,558	397960,794	2,1
17,86	360059,766	1,9
16,671	322158,738	1,7
10,894	278572,5558	1,47
19,488	217930,911	1,15
7,449	193295,2428	1,02
22,338	183819,9858	0,97
11,378	174344,7288	0,92
9,226	117493,1868	0,62
14,887	106122,8784	0,6
9,104	94752,57	0,5
7,734	90962,4672	0,48
10,312	70116,9018	0,37
10,396	60641,6448	0,32

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Neral	14,79	5783696,8728	30,52



CH\$NAME: NERAL
CH\$NAME: (E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENAL
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H16O
CH\$EXACT_MASS: 152.12012
CH\$SMILES: O=CC=C(C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C10H16O/c1-9(2)5-4-6-10(3)7-8-11/h5,7-8H,4,6H2,1-3H3/b10-7-
CH\$LINK: CAS [106-26-3](#)

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONISATION_ENERGY 20 eV

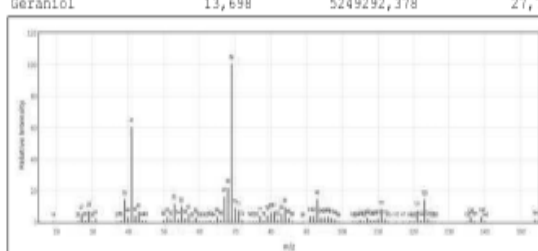
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

PK\$SPLASH: [splash10-0141-9100000000-f1553e4536424bf8c464](#)
PK\$NUM_PEAK: 14

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Geraniol	13,698	5249292,378	27,7



CH\$NAME: GERANIOL
CH\$NAME: (E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIEN-1-OL
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H18O
CH\$EXACT_MASS: 154.13577
CH\$SMILES: OCC=C(C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C10H18O/c1-9(2)5-4-6-10(3)7-8-11/h5,7,11H,4,6,8H2,1-3H3/b10-7-
CH\$LINK: CAS [106-24-1](#)

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONISATION_ENERGY 20 eV

MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

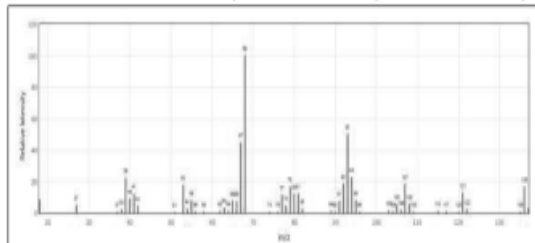
PK\$SPLASH: [splash10-0141-9100000000-f24e92e3c3efdc35a606](#)
PK\$NUM_PEAK: 12

```
PK6$PLASH: splash10-055f-9300000000-0289c8de75fe9d63ecbe
PK6$NUM PEAK: 106
```

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Limonene	17,543	492713,364	2,6



CHSNAME: LIMONENE
CHSNAME: PARA-MENTHA-1,8-DIENE
CHSCOMPOUND_CLASS: N/A
CHSFORMLA: C10H16
CHSEXACT_MASS: 136.12520
CHSMILES: CC(C)=C([H])CC([H])(C)C(C)=C
CHSIUPAC: InChI=1S/C10H16/c1-8(2)10-6-4-9(3)5-7-10/h4,10H,1,5-7H2,2-3H3/t10-m/s1

ACSMASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
ACSMASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
ACSMASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

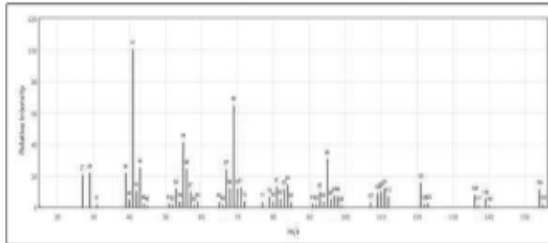
MSFOCUSSED_ION: ION_TYPE [M]++

PKSSPLASH: splash10-0173-9100000000-239928f205c8242a700a
PKSNUM_PEAK: 43

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Citronellal	10,558	397960,794	2,1



CHSNAME: CITRONELLAL
CHSNAME: 3,7-DIMETHYL-6-OCTENAL
CHSCOMPOUND_CLASS: N/A
CHSFORMLA: C10H18O
CHSEXACT_MASS: 154.13577
CHSMILES: O=CCC(C)CCC=C(C)C
CHSIUPAC: InChI=1S/C10H18O/c1-9(2)5-4-6-10(3)7-8-11/h5,8,10H,4,6-7H2,1-3H3

ACSMASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
ACSMASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
ACSMASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

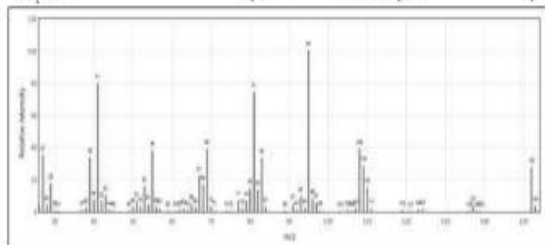
MSFOCUSSED_ION: ION_TYPE [M]++

PKSSPLASH: splash10-0660-9100000000-95b49c3f5088a3eddc72
PKSNUM_PEAK: 51

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Camphor	17,86	360059,766	1,9



CHSNAME: CAMPHOR
CHSNAME: 2-OXOBORNANE
CHSCOMPOUND_CLASS: N/A
CHSFORMLA: C10H16O
CHSEXACT_MASS: 152.12012
CHSMILES: O=C(C1C(C)C2C(C)C(C)C(C2)1)
CHSIUPAC: InChI=1S/C10H16O/c1-9(2)7-4-5-10(3)8(11)6-7/h7H,4-6H2,1-3H3

ACSMASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
ACSMASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
ACSMASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

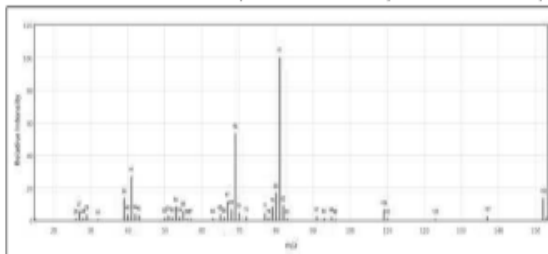
MSFOCUSSED_ION: ION_TYPE [M]++

PKSSPLASH: splash10-03mn-9100000000-lf6e5995ad259c69d84a
PKSNUM_PEAK: 14

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Fenchone	16,671	322158,738	1,7



CHSNAME: FENCHONE
CHSNAME: 1,3,3-TRIMETHYLBICYCLO(2.2.1)HEPTAN-2-ONE
CHSCOMPOUND_CLASS: N/A
CHSFORMLA: C10H16O
CHSEXACT_MASS: 152.12012
CHSMILES: O=C(C(C)C1C(C)C(C)C(C2)1)
CHSIUPAC: InChI=1S/C10H16O/c1-9(2)7-4-5-10(3,6-7)8(9)11/h7H,4-6H2,1-3H3

ACSMASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
ACSMASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
ACSMASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

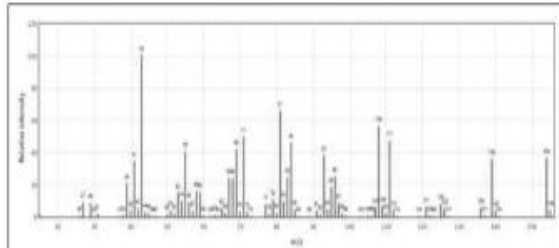
MSFOCUSSED_ION: ION_TYPE [M]++

PKSSPLASH: splash10-0011-9000000000-39548fbec25228181f9b
PKSNUM_PEAK: 30

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
1,8 Cineole	10,894	278572,5558	1,47



CHSNAME: 1,8-CINEOLE
CHSNAME: 1,3,3-TRIMETHYL-2-OXABICYCLO(2.2.2)OCTANE
CHSCOMPOUND_CLASS: N/A
CHSFORMLA: C10H18O
CHSEXACT_MASS: 154.13577
CHSMILES: N/A
CHSIUPAC: N/A

ACSMASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
ACSMASS_SPECTROMETRY: ION MODE POSITIVE
ACSMASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

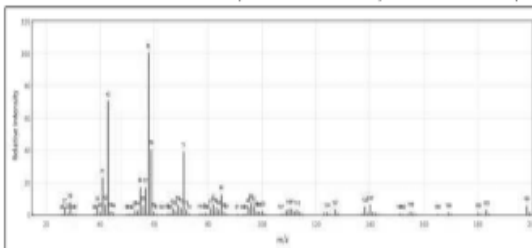
MSFOCUSSED_ION: ION_TYPE [M]+*

PKSSPLASH: splash10-000x-9200000000-5b8b6e2b4bb6695dfd
PKSNUM_PEAK: 55

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
2-Tridecanone	19,488	217930,911	1,15



CHSNAME: 2-TRIDECANONE
CHSCOMPOUND_CLASS: N/A
CHSFORMLA: C13H26O
CHSEXACT_MASS: 198.19837
CHSMILES: CCCCCCCCC(C)=O
CHSIUPAC: InChI=1S/C13H26O/c1-3-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13(2)14/h3-12H2,1-2H3

ACSMASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
ACSMASS_SPECTROMETRY: ION MODE POSITIVE
ACSMASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

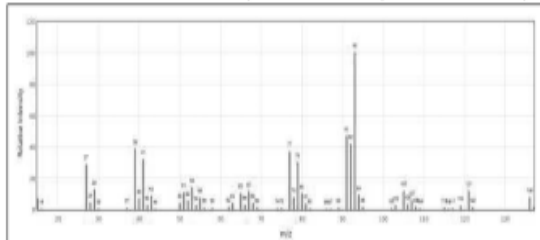
MSFOCUSSED_ION: ION_TYPE [M]+*

PKSSPLASH: splash10-0a41-9000000000-f27d8cbcb2a9eea32df
PKSNUM_PEAK: 37

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Pinene	7,449	193295,2428	1,02



CHSNAME: ALPHA-PINENE
CHSNAME: 2,6,6-TRIMETHYLBICYCLO(3.1.1)HEPT-2-ENE
CHSCOMPOUND_CLASS: N/A
CHSFORMLA: C10H16
CHSEXACT_MASS: 136.12520
CHSMILES: CC1(C)C(C1)C(C)C(C2)C1
CHSIUPAC: InChI=1S/C10H16/c1-7-4-5-8-6-9(7)10(8,2)3/h4,8-9H,5-6H2,1-3H3
CHSLINK: CAS [80-56-8](#)

ACSMASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
ACSMASS_SPECTROMETRY: ION MODE POSITIVE
ACSMASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

MSFOCUSSED_ION: ION_TYPE [M]+*

PKSSPLASH: splash10-0006-9100000000-1005b74eeefaeef15d2
PKSNUM_PEAK: 38

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



Minor compounds (AREA %<1)

	RT	PEAK AREA	AREA %
Hexoic acid	22,338	183818,0058	0,97
Paracetol	11,378	174344,7284	0,92
Camphene	9,226	117493,1868	0,62
Isa valeraldehyde	14,087	106122,8784	0,54
Linalool	9,164	94752,57	0,5
o-Octenone	7,734	80962,4672	0,48
Boenivone	10,312	76116,9018	0,37
Caryophyllene oxide	10,394	68041,6448	0,32

Extracto control de limonaria en estado fenológico 17 días después de punto de corte

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA

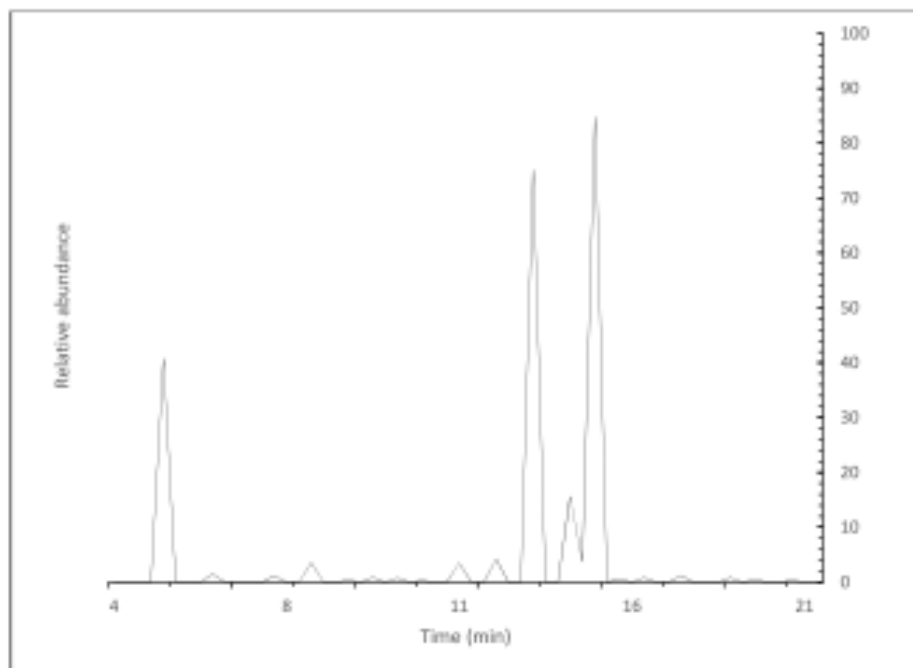
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



Data File: CONTROLPC
Original Data Path: C:\Xcalibur\Data\UDCA\2017\JULIO\VARIOS
Sample ID: Control20DPC
Operator: ITQ
Acquisition Date: 04/07/17 9:57:17 AM
Instrument Method: C:\Xcalibur\methods\LIMONARIA.meth

LIMONARIA.meth:

Initial_Temperature:40°C
Final_Temperature:240°C
Slope: 8°C min⁻¹
Ac instrument: hitachi m-80b
Ac instrument_type: ei-b
Ac mass_spectrometry: ms_type ms
Ac mass_spectrometry: ion_mode positive
Ac mass_spectrometry: ionization_energy 70 ev



RT	PEAK AREA	AREA %
6,49	3259488,41	17,20
7,45	117493,19	0,62
7,73	90962,47	0,48

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA

Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



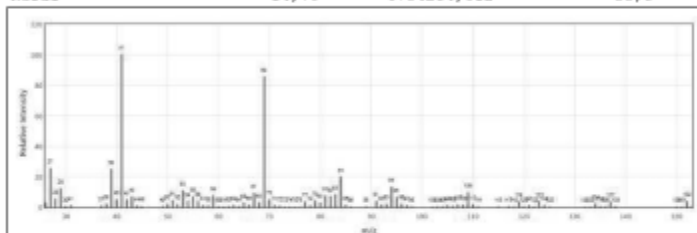
9,10	282362,66	1,49
9,23	32215,87	0,17
10,31	70116,90	0,37
10,40	60641,64	0,32
10,56	26530,72	0,14
10,89	278572,56	1,47
11,38	337319,15	1,78
13,70	6011103,04	31,72
14,18	1246943,82	6,58
14,79	6784284,01	35,80
14,89	49271,34	0,26
16,39	66326,80	0,35
16,67	94752,57	0,50
17,54	66326,80	0,35
17,86	41691,13	0,22
19,49	34110,93	0,18

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA

Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Neral	14,79	6784284,012	35,8



CHSNAME: NERAL
CHSNAME: (E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENAL
CHSCOMPOUND_CLASS: N/A
CHSFORMLA: C₁₀H₁₆O
CHSEXACT_MASS: 152.12012
CHSMILES: O=CC=C(C)CCC=C(C)C
CHSIUPAC: InChI=1S/C₁₀H₁₆O/c1-9(2)5-4-6-10(3)7-8-11/h5,7-8H,4,6H2,1-3H3/b10-7-
CHSLINK: CAS [106-26-3](#)

ACSMASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
ACSMASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
ACSMASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 20 eV

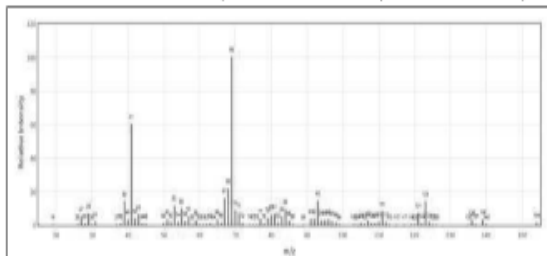
MSFOCUSSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

PKSSPLASH: [splash10-014i-9100000000-f1553e4536424bf8c464](#)
PKSNUM_PEAK: 14

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Geraniol	13,698	6011103,0408	31,72



CH\$NAME: GERANIOL
CH\$NAME: (E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIEN-1-OL
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C₁₅H₁₈O
CH\$EXACT_MASS: 154.13577
CH\$SMILES: OCC=C(C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C15H18O/c1-9(2)5-4-6-10(3)7-8-11/h5,7,11H,4,6,8H2,1-3H3/b10-7+
CH\$LINK: CAS 106-24-1

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 20 eV

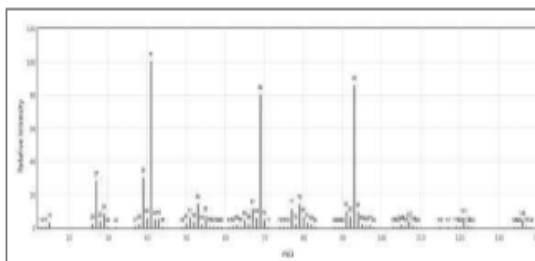
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

PK\$SPLASH: splash10-0141-9100000000-f24e92a3c3efdc35a606
PK\$NUM_PEAK: 12

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
β-myrcene	6,493	3259488,408	17,2



CH\$NAME: BETA-MYRCENE
CH\$NAME: 7-METHYL-3-METHYLENE-1,6-OCTADIENE
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C₁₅H₁₆
CH\$EXACT_MASS: 136.12520
CH\$SMILES: C=CC(=C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C15H16/c1-5-10(4)8-6-7-9(2)3/h5,7H,1,4,6,8H2,2-3H3

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

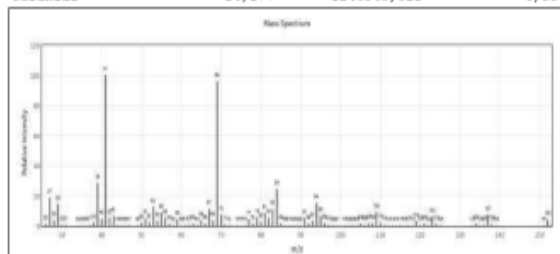
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

PK\$SPLASH: splash10-0006-9000000000-078927c5db5ba8691e12
PK\$NUM_PEAK: 36

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Geranial	14,177	1246943,821	6,58



CH\$NAME: GERANIAL
CH\$NAME: (E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENAL
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C₁₅H₁₆O
CH\$EXACT_MASS: 152.12012
CH\$SMILES: O=CC=C(C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C15H16O/c1-9(2)5-4-6-10(3)7-8-11/h5,7-8H,4,6H2,1-3H3/b10-7+
CH\$LINK: CAS 141-27-5

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

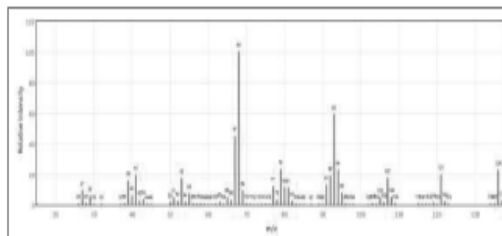
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

PK\$SPLASH: splash10-0141-9100000000-dcdfd8342f2d4ce5a439
PK\$NUM_PEAK: 13

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Dipentene	11,378	337319,1492	1,78



CH\$NAME: LIMONENE
CH\$NAME: PARA-MENTHA-1,8-DIENE
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C₁₅H₁₆
CH\$EXACT_MASS: 136.12520
CH\$SMILES: CC(C)=C([H])CC([H])(C)C(C)=C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C15H16/c1-8(2)10-6-4-9(3)5-7-10/h4,10H,1,5-7H2,2-3H3/t10-m/s1

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

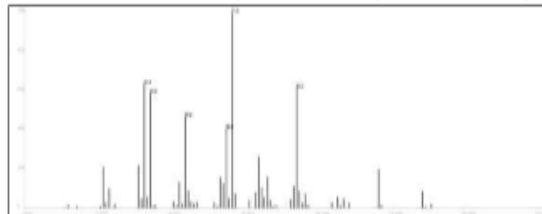
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

PK\$SPLASH: splash10-0173-9100000000-239928f205c8242e700a
PK\$NUM_PEAK: 43

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Linalool	9,104	282362,6586	1,49



CH\$NAME: LINALOOL
CH\$NAME: 3,7-DIMETHYL-1,6-OCTADIEN-3-OL
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H18O
CH\$EXACT_MASS: 154.13577
CH\$SMILES: CC(C)=CCCC(C)(O)C=C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C10H18O/c1-5-10(4,11)8-6-7-9(2)3/h5,7,11H,1,6,8H2,2-4H3

AC\$INSTRUMENT_TYPE: EI-B
AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

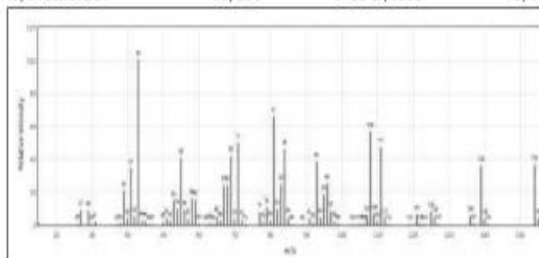
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

PK\$SPLASH: splash10-006x-9000000000-fe642a5570c732aea8de
PK\$NUM_PEAK: 57

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
1,8 Cineole	10,894	278572,5558	1,47



CH\$NAME: 1,8-CINEOLE
CH\$NAME: 1,3,3-TRIMETHYL-2-OXABICYCLO(2.2.2)OCTANE
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H18O
CH\$EXACT_MASS: 154.13577
CH\$SMILES: N/A
CH\$IUPAC: N/A

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

PK\$SPLASH: splash10-006x-9200000000-3b8bdb6e2b4bb8695dfd
PK\$NUM_PEAK: 55

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



Minor compounds (AREA %<1)

	RT	PEAK AREA	AREA %
Pinene	7,449	117493,1868	0,6
Fenchone	16,671	94752,57	0,5
α-Ocimene	7,734	90962,4672	0,48
Alpha camphorene	10,312	70116,9018	0,37
β-Elemene	16,387	66326,799	0,35
Caryophyllene	17,543	66326,799	0,35
Caryophyllene oxide	10,396	60641,6448	0,32
2-Undecanone	14,887	49271,3364	0,26
Eucarvone	17,86	41691,1308	0,22
2-Tridecanone	19,488	34110,9252	0,18
Camphene	9,226	32215,8738	0,17
Citronellal	10,558	26530,7196	0,14

Extracto de limonaria en estado fenológico 17 días después de punto de corte irradiado a $0,05 \text{ Wh.m}^{-2}$ y tiempo de adaptación 15 minutos

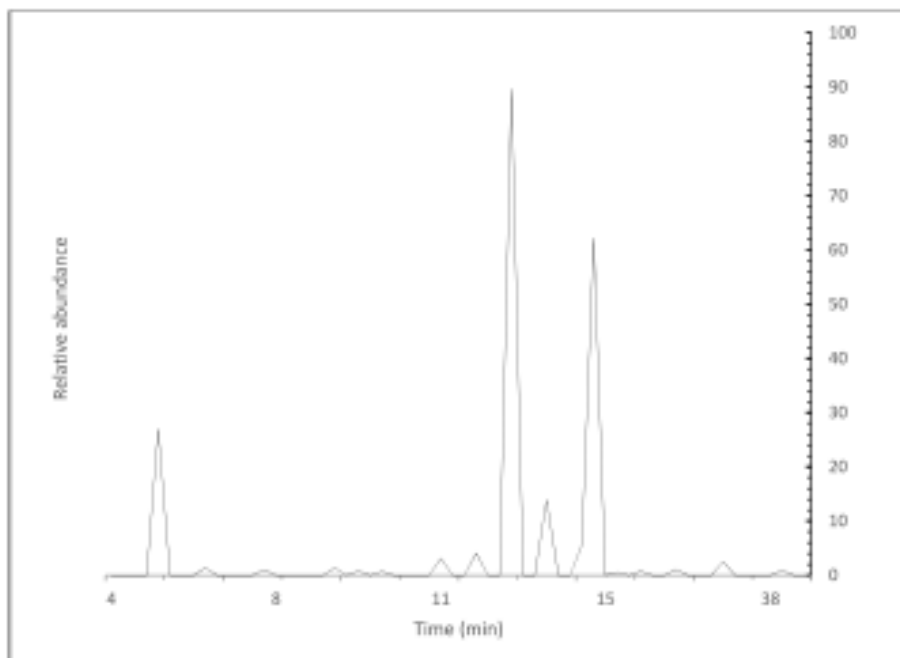
Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



Data File: CONTROLPC
Original Data Path: C:\Xcalibur\Data\UDCA\2017\JULIO\VARIOS
Sample ID: IR 20 DPC (1)
Operator: ITQ
Acquisition Date: 04/07/17 11:15:22 AM
Instrument Method: C:\Xcalibur\methods\LIMONARIA.meth

LIMONARIA.meth:

Initial_Temperature: 40°C
Final_Temperature: 240°C
Slope: 8°C min⁻¹
Ac instrument: hitachi m-80b
Ac instrument_type: ei-b
Ac mass_spectrometry: ms_type ms
Ac mass_spectrometry: ion_mode positive
Ac mass_spectrometry: ionization_energy 70 ev



RT	PEAK AREA	AREA %
6,49	2425665,79	12,80
7,45	117493,19	0,62
7,73	90962,47	0,48

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA

Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos

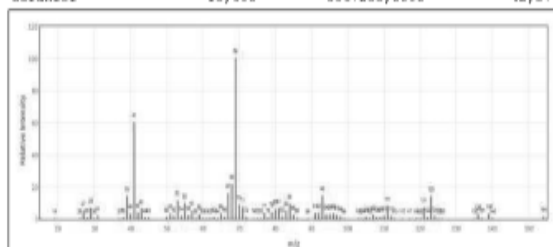


9,23	117493,19	0,62
10,31	70116,90	0,37
10,40	60641,64	0,32
10,89	278572,56	1,47
11,38	363849,87	1,92
13,70	8067233,81	42,57
14,18	1246943,82	6,58
14,79	5594191,73	29,52
14,89	49271,34	0,26
16,39	66326,80	0,35
16,67	94752,57	0,50
17,54	225511,12	1,19
19,49	79592,16	0,42

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Geraniol	13,698	8067233,8098	42,57



CH\$NAME: GERANIOL
CH\$NAME: (E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIEN-1-OL
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H18O
CH\$EXACT_MASS: 154.13577
CH\$SMILES: OCC=C(C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C10H18O/c1-9(2)5-4-6-10(3)7-8-11/h5,7,11H,4,6,8H2,1-3H3/b10-7+
CH\$LINK: CAS 106-24-1

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION ENERGY 20 eV

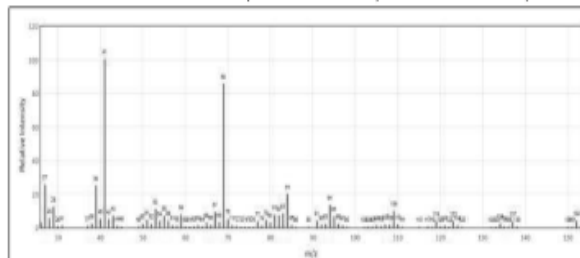
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]+*

PK\$FLASH: splash10-0141-9100000000-f24e92e3c3efdc35a606
PK\$NUM_PEAK: 12

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Neral	14,79	5594191,7328	29,52



CH\$NAME: NERAL
CH\$NAME: (E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENAL
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H16O
CH\$EXACT_MASS: 152.12012
CH\$SMILES: O=CC=C(C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C10H16O/c1-9(2)5-4-6-10(3)7-8-11/h5,7-8H,4,6H2,1-3H3/b10-7-
CH\$LINK: CAS 106-26-3

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION ENERGY 20 eV

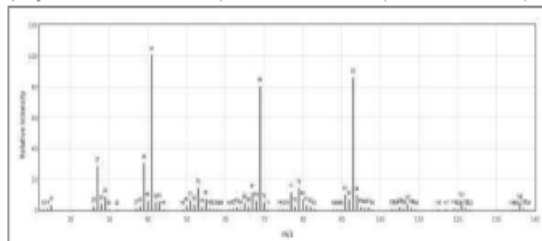
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]+*

PK\$FLASH: splash10-0141-9100000000-f1553e4536424bf8c464
PK\$NUM_PEAK: 14

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
β -myrcene	6,493	2425665,792	12,8



CH\$NAME: BETA-MYRCENE
CH\$NAME: 7-METHYL-3-METHYLENE-1,6-OCTADIENE
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C₁₀H₁₆
CH\$EXACT_MASS: 136.12520
CH\$SMILES: C=CC(=C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C₁₀H₁₆/c1-5-10(4)8-6-7-9(2)3/h5,7H,1,4,6,8H2,2-3H3

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

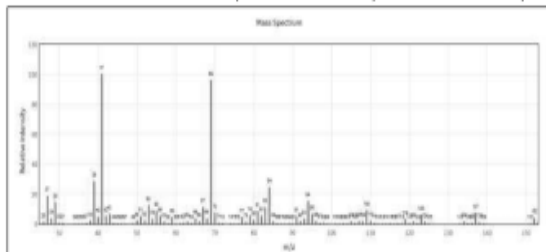
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

PK\$FLASH: splash10-0006-900000000-078927c5db5ba8691e12
PK\$NUM_PEAK: 36

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Geranial	14,177	1246943,8212	6,58



CH\$NAME: GERANIAL
CH\$NAME: (E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENAL
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C₁₀H₁₆O
CH\$EXACT_MASS: 152.12012
CH\$SMILES: O=CC=C(C)CCC=C(C)C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C₁₀H₁₆O/c1-9(2)5-4-6-10(3)7-8-11/h5,7-8H,4,6H2,1-3H3/b10-7+
CH\$LINK: CAS 141-27-5

CS\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

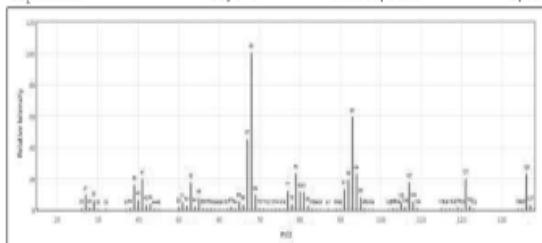
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

PK\$FLASH: splash10-0141-910000000-dcdfd8342f2d4ce5a439
PK\$NUM_PEAK: 13

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Dipentene	11,378	363849,8688	1,92



CH\$NAME: LIMONENE
CH\$NAME: PARA-MENTHA-1,8-DIENE
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C₁₀H₁₆
CH\$EXACT_MASS: 136.12520
CH\$SMILES: CC(C1=C(C(H)C(C(H)C1)C)C=C
CH\$IUPAC: InChI=1S/C₁₀H₁₆/c1-8(2)10-6-4-9(3)5-7-10/h4,10H,1,5-7H2,2-3H3/t10-m/s1

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

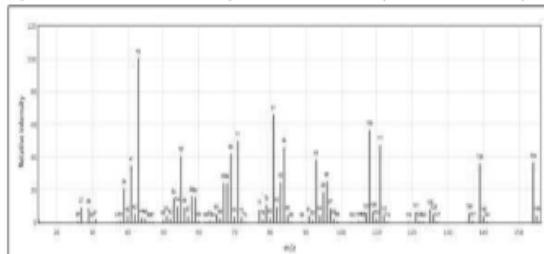
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

PK\$FLASH: splash10-0173-910000000-239928f205c8242a700a
PK\$NUM_PEAK: 43

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
1,8 Cineole	10,894	278572,5558	1,47



CH\$NAME: 1,8-CINEOLE
CH\$NAME: 1,3,3-TRIMETHYL-2-OXABICYCLO(2.2.2)OCTANE
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C₁₀H₁₈O
CH\$EXACT_MASS: 154.13577
CH\$SMILES: N/A
CH\$IUPAC: N/A

AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONIZATION_ENERGY 70 eV

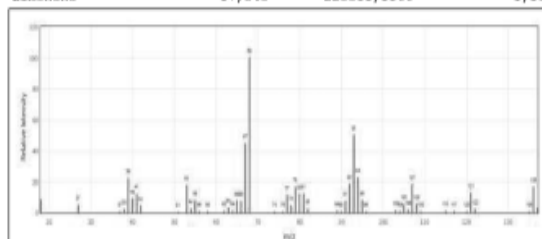
MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]⁺

PK\$FLASH: splash10-000x-920000000-5b8b6e2b4bb8695dfd
PK\$NUM_PEAK: 55

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



	RT	PEAK AREA	AREA %
Limonene	17,543	225511,1166	1,19



CH\$NAME: LIMONENE
CH\$NAME: PARA-MENTHA-1,8-DIENE
CH\$COMPOUND_CLASS: N/A
CH\$FORMULA: C10H16
CH\$EXACT_MASS: 136.12520
CH\$SMILES: CC(C1)=C([H])CC([H])(C1)C(C)=C
CH\$UPAC: InChI=1S/C10H16/c1-8(2)10-6-4-9(3)5-7-10/h4,10H,1,5-7H2,2-3H3/t10-m/s1

AC\$INSTRUMENT: HITACHI RMU-6M
AC\$INSTRUMENT_TYPE: EI-B
AC\$MASS_SPECTROMETRY: MS_TYPE MS
AC\$MASS_SPECTROMETRY: ION_MODE POSITIVE
AC\$MASS_SPECTROMETRY: IONISATION_ENERGY 70 eV

MS\$FOCUSED_ION: ION_TYPE [M]**

PK\$FLASH: splash10-0173-9100000000-239928f205c8242a700a
PK\$NUM_PEAK: 43

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales -
UDCA
Facultad de Ciencias Ambientales
Reporte de resultados cualitativos



Minor compounds (AREA %<1)

	RT	PEAK AREA	AREA %
Pinene	7,443	117493,1868	0,4
Camphene	9,226	117493,1868	0,62
Fenchone	16,671	94752,57	0,5
α -Cubimene	7,734	90963,4673	0,48
2-Tridecanone	19,488	79592,1588	0,42
Alpha camphorene	10,332	70116,9018	0,37
β -Elemene	16,387	66326,799	0,35
Caryophyllene oxide	10,396	60841,6448	0,32
2-Undecanone	14,887	49271,3364	0,26